

Interreg IV Italien-Österreich
Projekt „ Alpäsch“ (6142)
CUP H21J12000040007



Genotypisierung, nachhaltige Sicherung und Bewirtschaftung regionaler Äschenbestände in anthropogen veränderten Gewässersystemen (Alpäsch)

Subauftrag – Genetische Charakterisierung

ENDBERICHT

Steven Weiss, Karin Mattersdorfer & Christine Börger
Karl-Franzens Universität Graz
Institut für Zoologie, Universitätsplatz 2, A-8010

Im Auftrag von
Autonome Provinz Bozen-Südtirol
Abteilung 33
Land- und Forstwirtschaftliches Versuchswesen
Laimburg 6 – Pfatten
I-39040

Verfasst am 06.04.2015
(Deutsche Verfassung – Sylvia Schaeffer)

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG.....	3
1. EINLEITUNG.....	4
2. METHODEN.....	6
2.1 Probennahme.....	6
2.2 Produktion genetischer Daten	9
2.3 Genetische Mikrosatelliten Analysen	9
2.4 Genetische mtDNA Analysen	11
3. RESULTATE UND DISKUSSION.....	12
3.1 Allgemeine Indices genetischer Variabilität - Mikrosatelliten.....	12
3.2 Geographische Verteilung der genetischen Variation - Mikrosatelliten	13
3.3 Indices für Introgression und Populationsdifferenzierungen - Mikrosatelliten	14
3.4 Allgemeine Indices genetischer Variabilität und geographische Verteilung- mtDNA	17
3.5 Detailstudie - Inn Einzugsgebiet	21
3.6 Detailstudie - Piave Einzugsgebiet	25
3.7 Detailstudie - Piave Einzugsgebiet	25
4. BEWIRTSCHAFTUNGSEMPFEHLUNGEN	31
5. LITERATURVERZEICHNIS	38
6. ANHÄNGE	43
6.1 Beschreibung	43

ZUSAMMENFASSUNG

Für die AlpÄsch Analysen wurde eine Gesamtanzahl von 1150 *T. thymallus* Gewebe- oder DNA Proben aus 44 Populationen verwendet. Diese Zahl beinhaltet auch einige Populationen aus früheren Jahren welche als Referenz bzw. Vergleichsmaterial sowohl innerhalb als auch außerhalb des Studiengebietes benutzt wurden. Von den 1150 Proben wurden 1110 genetische Profile von 10 Mikrosatelliten Loci, 500 ganze mtDNA Kontrollregion Sequenzen, sowie 417 mtDNA ATP VI Sequenzen erfolgreich erstellt.

Mit einem globalen durchschnittlichen erwarteten Heterozygotiewert von 0,701 und einer durchschnittlichen Anzahl von 4,7 bis 12,8 (Mittelwert 8,8) Allelen per Locus wurde für die Mikrosatelliten Loci ein relativ hohes Level an genetischer Variabilität über das ganze Datenset hinweg gefunden. Geographisch konnte diese Variation in vier Hauptgruppen unterteilt werden: Eine Südalpine, eine Nordalpine, eine Adriatische (i.e. Etsch Einzugsgebiet) und eine gemischt Zentraleuropäische (in diesem Fall Rheintal) Linie, wobei letztere durch eine einzelne Population aus dem Lech Einzugsgebiet in Tirol repräsentiert wurde. Die meisten Nordalpinen Populationen zeigten kaum genetische Beimischungen fremder Herkunft, wogegen sowohl die meisten Südalpinen Populationen (mit Ausnahme der oberen Drau) als auch die Populationen aus dem Etsch Einzugsgebiet zumindest geringe, manchmal auch extensive Anzeichen von Vermischung aus mutmaßlich allochthonen Quellen zeigten. Trotzdem waren die meisten Populationen im Hardy Weinberg Gleichgewicht (HWG), mit der Ausnahme von Habachbach und Großsache im Inn Einzugsgebiet, einer Möll Zuchtpopulation im Drau Einzugsgebiet, Puni, Etsch und Falschauer aus Südtirol, und Piave (alle Sammelpunkte kombiniert), einem direkten Adriazubringer in der Provinz Belluno.

Die Variation in den mtDNA Kontrollregion Sequenzen stimmte relativ gut mit den Mikrosatelliten Daten überein: Eine Gesamtanzahl von 29 einzigartigen Haplotypen innerhalb von sechs unterschiedlichen Stämmen wurde identifiziert. Zusätzlich zu den oben beschriebenen Linien stammten einige Haplotypen aus Skandinavien oder einer kleinen Danubischen Linie aus dem Balkan. Das zusätzlich sequenzierte mtDNA Gen (ATP VI) brachte eine feinere regionale Auflösung als die Analyse der Kontrollregion allein.

Sowohl Mikrosatelliten als auch mtDNA Sequenzen unterstützten einen Gradienten in der Populationsstruktur innerhalb des Inn als auch des Piave Einzugsgebietes wobei die Populationen der obersten Sammelstellen sich von den weiter unten lokalisierten im jeweiligen Gebiet unterschieden.

Mehrere populations- oder regionsspezifische Resultate unterstützen eine Liste von Vorschlägen zur Verbesserung der nachhaltigen Bewirtschaftung der Art.

1. EINLEITUNG

Zurzeit ist die europäische Äsche *Thymallus thymallus* (L. 1758) innerhalb ihres Verbreitungsgebietes für Freizeitangler ein sehr populärer Fisch. Darüber hinaus sind Äschen ein relativ sensibler Indikator für Veränderungen von Wasserströmung, Temperatur und Substratbedingungen. Eine Vielzahl an Autoren hat festgestellt, dass diese Art sowohl innerhalb ihres Verbreitungsgebietes als auch in der individuellen Populationsgröße Rückgänge aufweist. Dies ist besonders in Zentraleuropa und entlang der südlichen Grenze ihres Verbreitungsbereichs der Fall (Lelek 1984, Persat 1996, Uiblein et al. 2001, Kirchhofer & Gruthruf 2002). Wie all diese Autoren zeigen, sind die Gründe für diese Rückgänge sehr vielfältig und beinhalten die direkte Zerstörung der Habitate, die Zunahme von Räuberdruck, eingeschleppte Konkurrenten und potentielle klimatische Veränderungen (Uiblein et al. 2001, Weiss 2001). Sieht man sich nun die letzten 20 Jahre an, kann man erkennen, dass wenig getan worden ist um den wahrscheinlichsten Faktor für die auftretenden Rückgänge zu finden. Schließlich passiert es mitunter, dass spezifische Populationen bei radikalen Lebensraumumwandlungen, wie zum Beispiel im Zuge von Wasserkraftprojekten, augenscheinlich ausgelöscht werden.

Seitens der zentraleuropäischen Fischereibewirtschaftung sind die ersten Reaktionen auf den Bestandsrückgang einer Art, die für die Sportfischerei von großem Interesse ist, künstliche Aufzucht und Besatzprogramme. Jedoch ist die Sinnhaftigkeit von Salmonidenbesatz in Fließgewässern für eine Verbesserung oder Erhaltung des Fischbestandes, zumindest in den letzten 50 Jahren, ein stark umstrittenes Thema (Weiss & Schmutz 1999 und enthaltene Zitate). Während die Resultate je nach individueller Situation variieren ist man sich einig, dass wilde Salmoniden (quer durch alle Arten und Umwelten) eine höhere Überlebensrate zeigen als Fische aus Zuchten oder Zucht-Wild Hybriden (e.g. Harbicht et al. 2014). Verstärkter Besatz kann auch dann allgemein bemängelt werden, wenn die die Umwelt betreffenden oder ökologischen Gründe für den ursprünglichen Rückgang nicht nachgewiesen werden können. Jedoch wird sich dieser Subauftrag nicht direkt mit diesem Thema beschäftigen, für das bereits ausführliche Literatur vorhanden ist. Stattdessen stellt sich die Frage, wenn man bedenkt, dass künstliche Aufzucht und Besatz stattfinden, inwieweit ein genetischer Basisdatensatz zu Entscheidungen der Realisierbarkeit und Nachhaltigkeit von solchen Programmen beisteuern kann. Dieser Blickwinkel setzt voraus, dass die Erhaltung der natürlichen genetischen Struktur einer Art (über eine Region hinweg, und innerhalb und zwischen spezifischen Populationen) langfristige Ziele begünstigt, nicht nur zur Aufrechterhaltung der Fischereiwirtschaft, sondern auch zur Bewahrung ausreichender genetischer Variation, die es Populationen ermöglicht sich auf laufende Umweltveränderungen anzupassen.

Eine Vielzahl an Autoren konnte in den letzten 15 Jahren zeigen, dass die europäische Äsche innerhalb Zentraleuropas eine starke phylogenetische Struktur aufweist, deutlich stärker als im Fall anderer Salmoniden, wie zum Beispiel der Bachforelle *Salmo trutta* (Lercetau-Köhler et al. 2013), oder anderer nahverwandter Arten der Gattung *Salmo*, e.g. dem Seesaibling *Salvelinus alpinus* (Brunner et al. 1998, Englbrecht et al. 2002) oder dem Donaulachs *Hucho hucho* (Weiss et al. 2010). Obwohl man die Bedeutung der kleinräumigen genetischen Diversität sowohl innerhalb als auch zwischen zentraleuropäischen *Salmo* (Schenekar et al. 2014), *Salvelinus* (Brunner et al. 1998) beziehungsweise *Coregonus* (Winkler et al. 2013) Populationen nicht unterbewerten sollte, ist die Diversität innerhalb der europäischen Äschen-Linien, über die selbe Region hinweg betrachtet deutlich höher - auch wenn zwischen diesen Gattungen solche vergleichenden Koaleszenzberechnungen noch nicht durchgeführt worden sind. Als erste konnten Gross et al. (2001) deutliche genetische Unterschiede für die Äschen aus den bayrischen Haupteinzugsgebieten zeigen. Sušnik et al. (2001) und Weiss et al. (2002) schließlich beschrieben eine stark divergierende adriatische Gruppierung, welche dann genauer von Meraner & Gandolfi (2012) untersucht wurde. Sowohl die adriatischen als auch die aus dem Loire-Einzugsgebiet stammenden Äschen repräsentieren deutlich divergentere Linien innerhalb von *Thymallus thymallus* als solche die man innerhalb des *Salmo trutta*-Artkomplexes finden kann, und sind noch stärker divergierend als jene, die innerhalb der europäischen *Salvelinus* oder *Coregonus* Populationen nachgewiesen werden konnten. Dies lässt vermuten, dass es sich bei diesen Linien eigentlich um verschiedene Arten handelt. Wie in Weiss et al. (2013) diskutiert wurde, konnte sogar innerhalb des oberen Donaueinzugsgebietes unter den Äschen eine beachtliche Diversität gezeigt werden, welche von wenigstens drei wenn nicht sogar vier mtDNA Hauptgruppierungen. Diese Hauptgruppierungen folgen der intraspezifischen Phylogenie, gezeigt in Weiss et al. (2002) und in Marić et al. (2011), und erweitert hinsichtlich der adriatischen Gruppierung in Meraner & Gandolfi (2012). Trotz dieser Struktur konnte in einigen Studien bereits gezeigt werden, dass historische Bewirtschaftungsaktivitäten diese potentiell wichtigen genetischen Unterschiede zwischen den Linien außer Acht gelassen haben und bereits beträchtlicher Transport von einem Einzugsgebiet ins andere, Freilassungen und nachfolgende genetische Vermischung zwischen divergierenden Beständen stattgefunden haben (Sušnik et al. (1999), Duftner et al. (2005), Meraner and Gandolfi (2012), Weiss et al. (2013).

Ziel dieser Studie ist es nun im Detail aufzuzeigen, wie diese genetischen Linien innerhalb des Untersuchungsgebietes verteilt sind. Jedoch soll darüber hinaus auch die Diversität innerhalb und zwischen den Populationen bestimmt werden. Schließlich soll unsere Arbeit einerseits zeigen, wie diese genetischen Daten verwendet werden können um

existierende Bewirtschaftungsstrategien zu bewerten, und andererseits konstruktive Kritik und Vorschläge dazu liefern inwiefern die Bewirtschaftung besser angepasst werden kann damit eine ökonomisch und ökologisch nachhaltige Fischerei in der südlichen Alpenregion gesichert werden kann.

2. METHODEN

2.1 Probennahme

Insgesamt wurden 1150 in 96%-igem Alkohol aufbewahrte *Thymallus thymallus* Gewebe- oder DNA Proben aus 44 Populationen in Tirol und Kärnten (Österreich) und Südtirol und Belluno (Italien) untersucht. Inkludiert sind hierbei auch einige Populationen aus vergangenen Jahren, die, sowohl von innerhalb als auch außerhalb des Untersuchungsgebietes stammend, als Referenzen oder Vergleichsmaterial verwendet wurden (Abbildung 1, Tabelle 1).

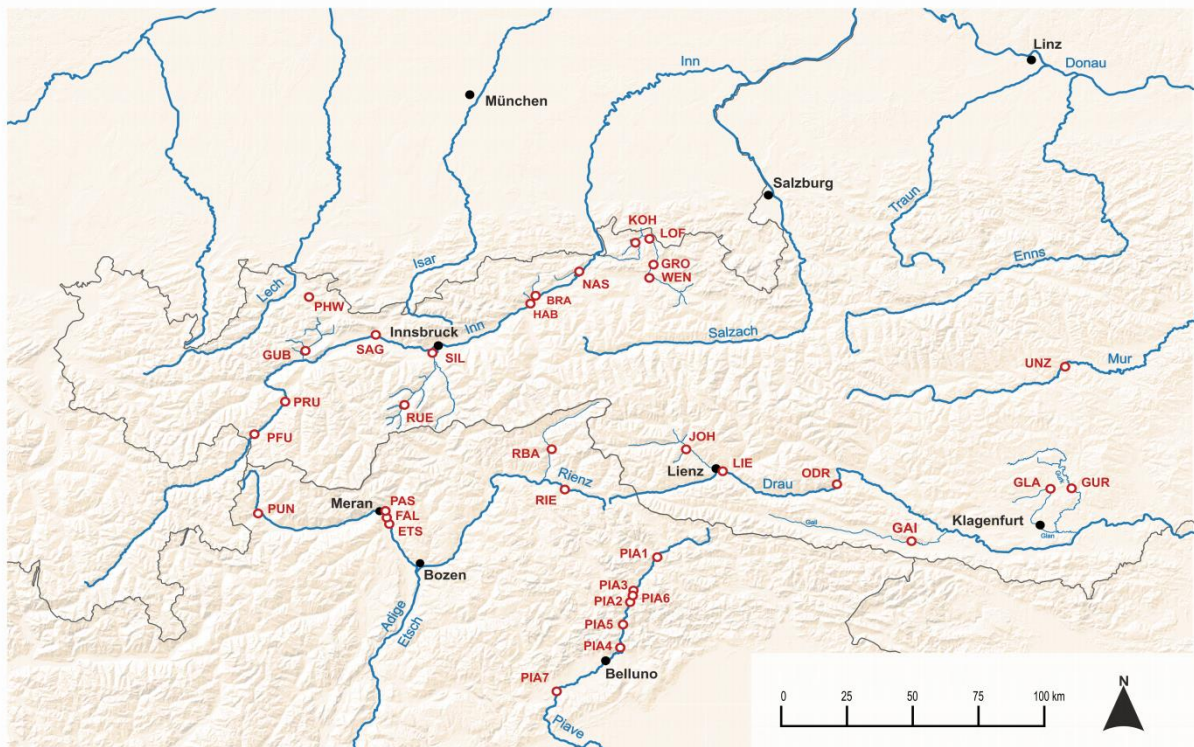


Abbildung 1. Probennahmestellen der 44 analysierten Populationen. Nicht gezeigt sind die Zuchtpopulationen Möll und Dellach Laue. Außerdem sind Replikatpopulationen derselben Probennahmestelle zu verschiedenen Zeitpunkten nicht angemerkt.

GENETISCHE CHARAKTERISIERUNG - ENDBERICHT

Tabelle 1: Übersicht der *Thymallus thymallus* Populationen. Gezeigt sind ID Nummer, Populationscode, Name der Population, Flusssystem sowie die Koordinaten der Sammelstelle. Außerdem die Zahl der analysierten Individuen gesamt, für mitochondriale DNA (D-Loop), für ATPase6 und für Mikrosatelliten (SSR). Die Mikrosatelliten Statistik zeigt den Mittelwert der Anzahl aller Allele einer Population (N_A), die beobachtete Heterozygotie (H_O), die erwartete Heterozygotie (H_E) und den FIS Wert. Signifikante FIS Werte sind fettgedruckt (*P < 0.001 größerer FIS Wert als beobachtet, **P < 0.001 kleinerer FIS Wert als beobachtet)

ID Code	Population	Fluss System	Koordinaten	N _{gesamt}	N _{dLoop}	N ^{ATP VI}	N ^{SSR}	Mikrosatelliten Statistik				
								N _A	H _O	H _E	F _{IS}	
TIROL												
1	BRA	Brandenberger Ache	Inn	47°27'11.1"N 11°51'54.5"E	43	16	16	41	10.1	0.706	0.694	-0.017
2	HAB	Habachbach	Inn	47°25'42.1"N 11°51'25.8"E	42	16	17	42	8.3	0.774	0.707	-0.095**
3	GUB	Gurglbach	Inn	47° 15'N 10° 46'E	26	14	15	26	7.5	0.656	0.656	0.000
4	KOH1	Kohlenbach 1 (2004)	Inn	47° 39'N 12° 23'E	30	--	--	29	8	0.710	0.724	0.020
5	KOH2	Kohlenbach 2 (2013)	Inn	47° 39'N 12° 23'E	40	17	16	40	11.5	0.723	0.765	0.055
6	GRO	Großache	Inn	47° 35'N 12° 28'E	28	--	--	26	10.1	0.666	0.782	0.151*
7	LOF	Großache Lofer	Inn	47° 39'N 12° 26'E	30	--	--	30	9.4	0.710	0.745	0.048
8	NAS	Nasenbach	Inn	47°32'11.9"N 12°04'51.7"E	37	11	11	37	11.4	0.671	0.703	0.046
9	PFU1	Pfunds 1 (2012)	Inn	46° 59' 57.75"N 10° 35' 23.29"E	14	14	14	14	6.1	0.635	0.618	-0.028
10	PFU2	Pfunds 2 (2013)	Inn	46° 59' 57.75"N 10° 35' 23.29"E	33	17	17	29	9.8	0.677	0.677	0.001
11	PFU3	Pfunds 3 (2014)	Inn	46° 57' 55.67"N 10° 32' 9.83"E	45	14	14	44	11.5	0.666	0.703	0.054
Pfunds Gesamt					92	45	45	87	13.4	0.664	0.684	0.030
12	PRU1	Prutz 1 (2010)	Inn	47° 4' 57.73"N 10° 40' 6.12"E	42	17	16	42	7.8	0.565	0.612	0.078
13	PRU2	Prutz 2 (2013)	Inn	47° 4' 57.73"N 10° 40' 6.12"E	45	22	22	44	10.4	0.632	0.660	0.044
14	PRU3	Prutz 3 (2014)	Inn	47° 4' 57.73"N 10° 40' 6.12"E	33	14	14	31	9.3	0.635	0.683	0.071
15	PRU4	Prutz 4 (2014)	Inn	47° 4' 57.73"N 10° 40' 6.12"E	30	16	16	27	9	0.677	0.712	0.050
16	PRU5	Prutz 5 (2004)	Inn	47° 4' 57.73"N 10° 40' 6.12"E	28	--	--	28	9.3	0.682	0.683	0.002
Prutz Gesamt					178	69	68	172	13.8	0.633	0.669	0.053*
17	RUE	Ruetz	Inn	47°03'11.3"N 11°14'28.9"E	30	11	10	30	10.3	0.707	0.718	0.015
18	SAG1	Saglbach 1 (2012)	Inn	47°18'42.4"N 11°06'22.9"E	14	14	14	14	6.8	0.603	0.679	0.117
19	SAG2	Saglbach 2 (2014)	Inn	47°18'42.4"N 11°06'22.9"E	25	15	15	24	11	0.676	0.732	0.079
20	SIL	Sill	Inn	47°15'36.3"N 11°24'14.7"E	42	17	17	38	12.8	0.702	0.675	-0.012
21	WEN	Wendbach	Inn	47° 31'N 12° 26'E	13	--	--	8	4.7	0.745	0.741	-0.003
22	PHW	Plansee, Heiterwangersee	Lech	47° 27'N 10° 48'E	40	14	15	38	10.7	0.753	0.768	0.020
KÄRNTEN												
23	GAI	Gail	Gail - Drau	46° 35'N 13° 37'E	31	15	15	31	10	0.626	0.669	0.066
24	GLA	Glan	Glan - Gurk - Drau	46° 44' 51.07"N 14° 23' 3.73"E	30	16	15	28	10.8	0.759	0.792	0.043
25	GUR	Gurk	Gurk - Drau	46° 45' 14.29"N 14° 30' 0.72"E	30	16	16	29	11.5	0.783	0.780	-0.005
26	ODR	Obere Drau	Drau	46° 46' 27.77"N 13° 20' 41.17"E	15	15	15	15	6.8	0.628	0.689	0.090

GENETISCHE CHARAKTERISIERUNG - ENDBERICHT

Fortsetzung Tabelle 1: Übersicht der *Thymallus thymallus* Populationen. Gezeigt sind ID Nummer, Populationscode, Name der Population, Flusssystem sowie die Koordinaten der Sammelstelle. Außerdem die Zahl der analysierten Individuen gesamt, für mitochondriale DNA (D-Loop), für ATPase6 und für Mikrosatelliten (SSR). Die Mikrosatelliten Statistik zeigt den Mittelwert der Anzahl aller Allele einer Population (N_A), die beobachtete Heterozygotie (H_O), die erwartete Heterozygotie (H_E) und den FIS Wert. Signifikante FIS Werte sind fettgedruckt (*P < 0.001 größerer FIS Wert als beobachtet, **P < 0.001 kleinerer FIS Wert als beobachtet)

ID Code	Population	Fluss System	Koordinaten	N ^{gesamt}	N ^{dLoop}	N ^{ATP VI}	N ^{SSR}	Mikrosatelliten Statistik				
								N _A	H _O	H _E	F _{IS}	
ITALIEN/SÜDTIROL												
27	ETS	Etsch	46°18'N 11°15'E	20	16	16	20	7.4	0.492	0.623	0.217*	
28	FAL	Falschauer	46° 37' 40.58"N 11° 10' 18.52"E	21	17	--	19	8.6	0.574	0.703	0.191*	
29	PAS	Passer	46° 40' 4.03"N 11° 9' 2.65"E	15	13	--	13	7.5	0.625	0.679	0.085	
30	PIA1	Piave 1	46° 32' 58.35"N 12° 26' 25.79"E	20	16	--	20	8.4	0.692	0.746	0.074	
31	PIA2	Piave 2	46° 23' 38.96"N 12° 21' 25.66"E	2	2	--	2	--	--	--	--	
32	PIA3	Piave 3	46° 24' 6.04"N 12° 22' 13.32"E	1	1	--	1	--	--	--	--	
33	PIA4	Piave 4	46° 10' 20.79"N 12° 16' 50.22"E	5	5	--	5	--	--	--	--	
34	PIA5	Piave 5	46° 18' 9.58"N 12° 19' 28.43"E	6	5	--	6	--	--	--	--	
35	PIA6	Piave 6	46° 23' 37.45"N 12° 21' 23.73"E	2	1	--	1	--	--	--	--	
36	PIA7	Piave 7	46° 1' 51.76"N 11° 58' 18.53"E	16	16	--	15	7.3	0.688	0.749	0.084	
PIA Gesamt				51	46	--	50	13.5	0.697	0.820	0.151*	
37	PUN	Puni	46° 39' 50.39"N 10° 35' 7.66"E	50	17	17	50	10.1	0.646	0.738	0.127*	
38	RBA	Reinbach	46° 53' 49.52"N 11° 56' 56.05"E	50	17	17	50	8.1	0.521	0.518	-0.002	
39	RIE	Rienz	46° 45' 35.08"N 12° 3' 4.75"E	10	8	--	10	7.5	0.759	0.795	0.050	
OSTTIROL												
40	DEL	Drau, Dellach Laue	(Drau) Fischzucht	10	10	10	10	4.7	0.638	0.656	0.039	
41	JOH	Michelbach	Isel 46° 54' N 12° 37' E	56	16	16	53	10.3	0.603	0.606	0.006	
42	LIE	Lienz	Drau 46° 49' N 12° 46' E	5	5	5	5	4.7	0.820	0.744	-0.116	
43	MOE	Möll	(Drau) Fischzucht	25	14	16	25	10.3	0.643	0.715	0.103*	
STEIERSMARK												
44	UNZ	Unzmarkt	Mur 47° 12'N 14 25' E	20	--	--	20	6.7	0.746	0.706	-0.058	
Gesamt				1150	500	417	1110	8.885	0.6723	0.7012	0.0302	

2.2 Produktion genetischer Daten

Die Rohdaten für die vorliegende Studie wurden durch PCR-Amplifikation und anschließende automatische Sequenzierung von zwei mtDNA Fragmenten, der Kontrollregion und des ATP VI Genes, gewonnen. Darüber hinaus wurden 10 Mikrosatelliten Loci mittels Multiplex-Amplifikation und automatischer Genotypisierung untersucht. Detaillierte Protokolle zu Amplifikation und Sequenzierungsmethoden kann man in den folgenden Arbeiten nachlesen: Weiss et al. (2001 & 2013) bezüglich der Kontrollregion, und Froufe et al. (2005) in Bezug auf das ATP VI Gen. Weitere Details können auf Anfrage bereitgestellt werden. Für die Mikrosatelliten Typisierungsprotokolle wurden ursprünglich 12 Loci amplifiziert, deren Multiplex-Kombinationen im Rahmen eines Schweizer Auftrages optimiert (Cattanéo et al. 2011) wurden. Jedoch wurde das Protokoll dazu nie veröffentlicht weshalb wir nun eine Übersicht der Loci in Tabelle 2 zeigen. Zwei der 12 Loci, *Tth305* und *Tth446*, wurden aufgrund übermäßigen Allelausfalls aus allen Methoden der endgültigen Analyse ausgeschlossen.

Die Amplifikationen wurden in zwei Multiplex-Polymerase-Kettenreaktionen (MR1 & MR2, Tabelle 2) optimiert und durchgeführt. In MR1 sind die drei Dinukleotid-Loci *Thy1*, *Thy62* und *Tth447*, und die vier Tetranukleotid-Loci *Tar101*, *Tar106*, *Tth445* und *Tth305* kombiniert und in MR2 der Dinukleotid-Locus *Thy54* und die vier Tetranukleotid-Loci *Tar104*, *Tth213*, *Tth414* und *Tth446*. Die PCR Bedingungen setzten sich wie folgt zusammen: 5-30ng Ausgangs-DNA, 2,5µl 2x Type-it Multiplex Master Mix (Qiagen), 0,2µM von jedem Primer in einem finalen Reaktionsvolumen von 5µl. Die PCR Zyklen wurden von einem initialen Denaturierungsschritt bei 95°C für 5min gefolgt von 25 Zyklen bestehend aus der Denaturierung bei 95°C für 30sec, der Primerhybridisierung (*primer annealing*) bei 59°C (MR1) oder 60°C (MR2) für 1min und der Elongation (*extension*) bei 72°C für 30sec, und einem finalen Elongationsschritt bei 60°C für 30min zusammengesetzt. Die Allele wurden mit einem internen Größenstandard (GeneScan-500 ROX, Applied Biosystems) auf einem automatischen Genotypisierer (ABI 3130xl, PerkinElmer) gescored und mit der Software GENEMAPPER Version 3.7 (ABI) analysiert.

2.3 Genetische Mikrosatelliten Analysen

Die Maßgrößen der genetischer Variation, wie zum Beispiel Heterozygotie, Varianz in der Allelgröße und durchschnittliche Allelanzahl wurden mittels GENETIX Version 4.05 (Belkhir et al. 1996-2004) berechnet, während die Zahl der Allelen pro Locus (A_N) und Abweichungen vom Hardy-Weinberg Equilibrium (mittels *fixation index* F_S) mit FSTAT Version 2.9.3.2 (Goudet 2001) kalkuliert wurden. GenePop (Rousset 2008) diente zur

Evaluierung von genotypischem Kopplungsungleichgewicht (*linkage disequilibrium*, LD) auf populationsgenetischem Niveau. Statistische Signifikanz wurde mit 12 000 Vertauschungen (*permutations*) und einer „*table-wide*“ Bonferroni-Korrektur erlangt.

Tabelle 2: Liste der in der Studie benutzten Mikrosatelliten Loci. Gezeigt sind das Wiederholungsmotiv der originalen Ursprungssequenz, der in der Multiplex-Reaktion verwendete Fluoreszenzfarbstoff, die Referenz der ursprünglichen Sequenz sowie die GenBank Zugangsnummer. Die Loci sind nach ihrer Verwendung in den Multiplex-Reaktionen in zwei Gruppen (MR1 und MR2) eingeteilt.

Locus	Repeat motif	Color	Reference	GenBank Acc.
<u>MR1 – Multiplex Reaction 1 – 7 loci</u>				
Tar101	(CTTT) ₂₂	HEX	Diggs & Ardren (2008)	EF694938
Tar106	(CATA) ₂₄	FAM	Diggs & Ardren (2008)	EF694942
Tth305	(CTTT) ₈	NED	Junge et al. (2010)	GU225714
Tth445	(GATA) ₂₀	FAM	Junge et al. (2010)	GU225725
Tth447	(TG) ₁₉	HEX	Diggs & Ardren (2008)	GU225727
Thy1	(CA) ₁₇	FAM	Sušnik et al. (1999a)	AF115407
Thy62	(CA) ₁₇	NED	Sušnik et al. (2000)	AF130409
<u>MR2 – Multiplex Reaction 2 – 5 loci</u>				
Thy54	(TG) ₁₃	HEX	Sušnik et al. (1999b)	AF175252
Tar104	(CATA) ₂₃	NED	Diggs & Ardren (2008)	EF694940
Tth213	(CTTT) ₃₃	HEX	Junge et al. (2010)	GU225711
Tth414	(AGAT) ₂₁	NED	Junge et al. (2010)	GU225719
Tth446	(ATCT) ₁₅	FAM	Junge et al. (2010)	GU225726

Um das Vorhandensein einer Populationsstruktur zu berechnen wurde die Bayesische Clustering Methode STRUCTURE Version 2.3.3 (Pritchard et al. 2000), ohne vorherige Information zur Herkunft einer Population, verwendet. Diese Methode definiert „K“ Subpopulationen (*clusters*), welche durch korrelierende Allelfrequenzen der Loci charakterisiert sind und vor allem auf ihrer Gruppenzuordnung im Hardy-Weinberg Gleichgewicht basieren. Aufgrund der Komplexität der Probenherkunft wurde eine hierarchische STRUCTURE Analyse (Vähä et al. 2007) durchgeführt. Jeder Lauf (*run*) bestand aus einem *Burn-in* von 50 000 gefolgt von 100 000 Wiederholungen (*iterations*). Fünf unabhängige Läufe wurden durchgeführt, wobei K in den partitionierten Datensätzen zur absoluten Anzahl an Populationen gesetzt wurde. Um zu entscheiden welcher K-Wert am wahrscheinlichsten ist, wurde in Anlehnung an Evanno et al. (2005) die Änderungsrate zweiter Ordnung (*second-order rate of change*) $L''(K)$ herangezogen (Online-Tool: Structure Harvester, http://taylor0.biology.ucla.edu/struct_harvest). Außerdem wurde die Populationsstruktur auf

Ebene der individuellen Probennahmegebiete analysiert um die Struktur innerhalb der Populationen bestmöglich zu evaluieren.

Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Populationen innerhalb und zwischen den Einzugsgebieten wurden ebenso mittels faktorieller Korrespondenzanalyse (FCA), unter Verwendung von GENETIX, bildlich dargestellt. Um die Signifikanz von demographischen Expansionssignalen zu testen wurde der „*within-Locus*“ k Test und der „*interLocus*“ g Test (Reich & Goldstein 1998) mittels Excel Macro von Bilgin (2007) verwendet. Außerdem wurde nach Signalen eines Flaschenhalseffekts über relativ rezente Zeitperioden hinweg gesucht, wobei ein Wilcoxon- und ein „mode-shift“- Test in BOTTLENECK 1.2.02 (Piry et al. 1999) durchgeführt wurde. Diese Methode wurde bereits von Swaitdipong et al. (2010) an Äschenpopulationen angewendet. Darüber hinaus wurde der *M-ratio* Test, welcher von Garza & Williamson (2001) entwickelt wurde, ausgeführt.

Da diese Studie auch die Probennahme von mehreren Populationen beinhaltet von denen angenommen wird, dass sie einerseits sehr klein sind oder andererseits durch künstliche Aufzuchtverfahren stark beeinflusst wurden, testeten wir zusätzlich innerhalb der Proben die Vollgeschwisterbeziehungen zwischen den Individuen mit dem Programm Colony (Jones & Wang 2009).

Für einen Großteil der Proben innerhalb des Tiroler Inn-Flusssystems und auch für das Piave Einzugsgebiet in Belluno wurde auch auf einen genetischen Gradienten der genotypischen Differenzierung getestet. Dazu benutzten wir das Programm Alleles in Space (Miller 2005) und führten sowohl einen einfachen Mantel-Test als auch einen *spatial* Autokorrelations-Test aus.

2.4 Genetische mtDNA Analysen

Sowohl die Kontrollregion als auch die ATP VI mtDNA Sequenzen wurden einzeln und als zusammengefügttes Alignment im Programm MEGA (Tamura et al. 2013) aligniert. Da die phylogenetischen Verwandtschaftsbeziehungen, basierend auf mtDNA Daten, von den Äschen in der Region gut bekannt sind, haben wir für die Zuordnung der Haplotypen zu den bereits beschriebenen Gruppierungen einfache Neighbour-Joining Bäume (basierend auf p-Distanzen) herangezogen. Außerdem wurden Haplotyp-Netzwerke, basierend auf einem 95% Parsimoniekriterium (Tempelton et al. 1992) zur Darstellung von regionalen Haplotypenunterschieden zwischen den Haplotypen berechnet, wofür wir das Programm PoPAr (<http://popart.otago.ac.nz>) verwendeten.

3. RESULTATE UND DISKUSSION

3.1 Allgemeine Indices genetischer Variabilität - Mikrosatelliten

Ein relativ hohes Ausmaß an genetischer Variabilität konnte für die Mikrosatelliten-Loci über den ganzen Datensatz hinweg gefunden werden, wobei die durchschnittliche Gendiversität pro Population von 0,577 bis 0,820 mit einem Gesamtdurchschnitt von 0,627 reichte. Die meisten Populationen waren im Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE), mit deutlichen Ausnahmen der Populationen **Habachbach und Großache im Inn Einzugsgebiet**, einer **Möll Zuchtpopulation im Drau Einzugsgebiet**, **Puni, Etsch und Falschauer aus Südtirol**, und **Piave**, einem direkten Adriazubringer in **der Provinz Belluno in Italien** (Tabelle 1, F_{is} Werte). Innerhalb der Piave waren die Populationen im obersten und untersten Bereich des beprobten Flusslaufes im HWE (Tabelle 1). Mit Ausnahme für Habachbach (Tirol) **waren die F_{is} Werte positiv, was mit hoher Wahrscheinlichkeit auf Populationsstruktur innerhalb einer Probe hinweist. Im Fall von Habachbach war der F_{is} Wert signifikant negativ, was höchstwahrscheinlich Inzucht widerspiegelt** (s.u. Geschwisteranalyse). Weitere signifikante Abweichungen vom HWE (positive F_{is} Werte) wurden für viele über verschiedene Jahre zusammengefasste Proben aus Prutz und Pfunds, zweier Gemeinden entlang des Inns in Tirol, als auch für die gepoolten Populationen innerhalb des Piave Einzugsgebietes gefunden. Bezüglich der Tiroler Inn Populationen ist dies insofern interessant, als die Proben von innerhalb eines Jahres bei den Einzelanalysen sehr wohl im HWE waren. Dies bedeutet, dass sich trotz des innerhalb eines Jahres vorhandenen HWE die Allelfrequenzen für diese Innpopulationen signifikant über die Jahre hinweg verändern. Als einfachste Erklärung dafür lässt sich sicher der Einfluss des Besatzprogrammes nennen, welches Allelfrequenzen durch künstliche Partnerwahl beeinflusst oder ungewollt spezifische Elternkombinationen fördert. Dies kann entweder durch Zufall oder durch Anpassung an die Bedingungen der Aufzuchtstationen einen unverhältnismäßigen Beitrag auf zukünftige Genpools leisten. Diese Hypothese kann statistisch getestet werden, indem man die Allelfrequenzen zwischen Brutpartnern, Nachkommen der Zuchtanstalten und wildgefangenen Proben vergleicht. Eine alternative Erklärung wäre eine extrem kleine effektive Populationsgröße wobei potentiell unterschiedliche Laichgründe signifikant zum Genpool jedes Jahres beitragen. Die Struktur innerhalb des Piave Gebietes (siehe mtDNA Resultate unten) basiert offenbar auf der Existenz verschiedener divergenter Linien innerhalb des Systems. Da wir davon ausgehen, dass die native Linie des Piave Systems Adriatisch sein sollte, stammen diese vermutlich alle aus Besatz.

Neben der HWE-Berechnung, testeten wir auf Kopplungsungleichgewicht (*linkage disequilibrium*, LD), einem statistischen Verfahren, das historische Durchmischung für eine

längere Zeitperiode als Abweichungen vom HWE widerspiegelt. Durch die Einschränkung von 10 Mikrosatelliten-Loci für die Analyse ergaben sich aus insgesamt 1755 paarweisen Vergleichen (Untersuchungen) nur 19 statistisch signifikante LD-Assoziationen (unter der Anwendung einer „*strict Bonferroni table-wide*“ Korrektur zur Erhaltung eines nominalen Alphas von 0,05). Am augenscheinlichsten war die hohe Anzahl an signifikanten Assoziationen für die Großache Population (Tirol), was aufgrund der starken Struktur innerhalb der Population zu erwarten ist, aber auch für die Pfunds-Probe aus dem Jahr 2013. Im Fall der Großache wurde diese Situation bereits von Weiss et al. (2013) beschrieben. Diese Probe besteht eindeutig aus zwei hochdivergenten Linien, zwischen welchen keine Durchmischung stattfindet. Eine zukünftige Probennahme wäre wichtig um zu bestimmen, ob diese Linien nun tatsächlich in Kontakt sind und sich kreuzen, oder ob die ursprüngliche Probe aus einem Teil natürlichen und einem Teil frisch besetzten (von außerhalb der Region) Materials bestand. Für die Pfunds 2013 Probe kann man die Erklärung in der Geschwisteranalyse finden. Hier wurden mehrere doppelte Stichproben, sowie eine Anzahl an Vollgeschwistern gefunden. Die doppelten Stichproben spiegeln am ehesten einen Fehler bei der Probennahme aus dem Feld wider, während die Vollgeschwister nicht-zufällige Probennahmen der Populationen repräsentieren. Da eine „*table-wide Bonferroni*“ Korrektur für so viele paarweise Tests extrem konservativ ist, evaluierten wir auch, wie viele LD-Assoziationen mit einem **nicht-korrigierten P-Wert** von 0,05 ermittelt werden würden. Diese Vorgehensweise lieferte **etliche mehr Populationen, nämlich Michelbach (JOH) in Osttirol, Reinbach (RBA) in Südtirol und Glan (GLA) in Kärnten mit Hinweisen auf LD, welches historische Durchmischung oder eine Inzuchtprobe widerspiegeln könnte.**

3.2 Geographische Verteilung der genetischen Variation - Mikrosatelliten

Zur Evaluierung der Verteilung der genetischen Variation über einen breiten geographischen Raum hinweg kann die faktorielle Korrespondenzanalyse (PCA) herangezogen werden. Diese zeigte, dass die genetische Variation in vier Hauptlinien aufgeteilt werden kann: eine Südalpine Linie, eine Nordalpine Linie, eine Adriatische (e.g. Etsch Einzugsgebiet) Linie und eine Rhein oder auch gemischt Zentraleuropäische Linie, welche durch eine einzige Population aus dem Lech Einzugsgebiet in Tirol (PHW) repräsentiert ist (Abbildungen 2a & b). Die erste Komponente (X-Achse) trennt die Nord- und Südalpinen Linien wie in Weiss et al. (2013) beschrieben und repräsentiert 49,98% der Variation im gesamten Datensatz. Die zweite Komponente (Y-Achse) trennt die Adriatische (Etsch, Puni, Passer & Falschauer) Linie von dem restlichen Datensatz und beschreibt 15,64% der Variation in dem Datensatz. Eine dritte Komponente (Y-Achse, Abbildung 2b) ist

erforderlich um die starke Divergenz der gemischt Zentraleuropäischen Linie (hier mit der PHW Population aus dem Lech Einzugsgebiet repräsentiert) von dem restlichen Datensatz zu zeigen. Und diese Komponente beschreibt 8,18% der Variation in dem Datensatz.

Vier Populationen fallen nicht eindeutig in einen der vier Hauptcluster und stellen somit intermediäre oder stark vermischte Populationen dar. Diese sind Gurk (GUR) aus Kärnten, Großache (GRO) aus Tirol, Rienz (RIE) aus Südtirol und PIA7, die oberste Populationen des Piave Einzugsgebiets in Belluno.

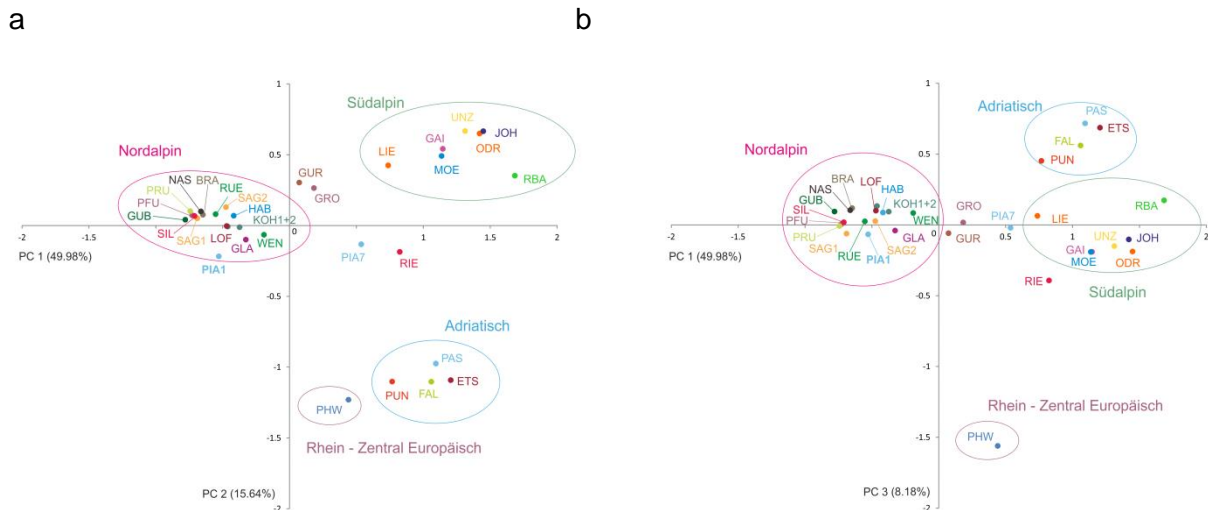


Abbildung 2. Faktorielle Korrespondenzanalyse (PCA) auf Populationsniveau, basierend auf Allelfrequenzen. a) Gezeigt sind die erste (X-Achse) und die zweite (Y-Achse) Hauptkomponente. b) Gezeigt sind die erste (X-Achse) und die dritte (Y-Achse) Hauptkomponente. Jede Population ist bezeichnet wie in Tabelle 1 gezeigt.

Während zwar die PCA von Populationen nützlich ist um großräumig regionale Unterschiede zu zeigen, beinhalten diese Resultate weder dass die vielen Populationen innerhalb dieser Linien ganz gleich sind, noch vermitteln sie ein gutes Bild vom Grad an Introgression über die Annahme hinaus, dass die vier Populationen Hybridpopulationen zu sein scheinen (Abbildungen 2a & b).

3.3 Indices für Introgression und Populationsdifferenzierungen - Mikrosatelliten

Der Grad an Hybridisierung und Introgression ist am besten nachvollziehbar wenn man sich die Resultate der hierarchischen STRUCTURE Analyse anschaut. In Abbildung 3 zeigt die obere Graphik den ersten Lauf von allen Populationen, in dem $K = 2$ (zwei genetische Einheiten) als die am wahrscheinlichste Anzahl an genetischen Einheiten identifiziert wurde. Dies ist ein typisches Ergebnis für große Datensätze, die viele Populationen beinhalten. Die

Methode erkennt die größte Unterteilung in dem Datensatz als die wahrscheinlichste an und ignoriert oder zumindest errechnet eine geringere Wahrscheinlichkeit für die nachfolgende Struktur. Die Aufteilung trennt in diesem Fall die Nordalpine Linie (in rot markiert) von den restlichen Populationen (in grün markiert).

Die Q-Werte können als Zuordnungswerte verstanden werden, oder als der prozentuelle Anteil an Genen welche von einer K Einheit abstammen. Zum Beispiel in der ersten Reihe in Abbildung 3, sind jene Individuen, die 100% rot sind, mit 100%-iger Sicherheit der Nordalpinen Linie zugeordnet. Für jede Ebene nach der ersten wurden ganze Populationen basierend auf den mehrheitlichen Q-Werten (Y-Achse) zusammengehalten – ausgenommen die GRO Population, welche in zwei Gruppen von homogenen Individuen geteilt wurde, wovon eine zur Nordalpinen Linie gehört, und zwei Populationen aus dem Piave Einzugsgebiet (PIA1 & PIA7).

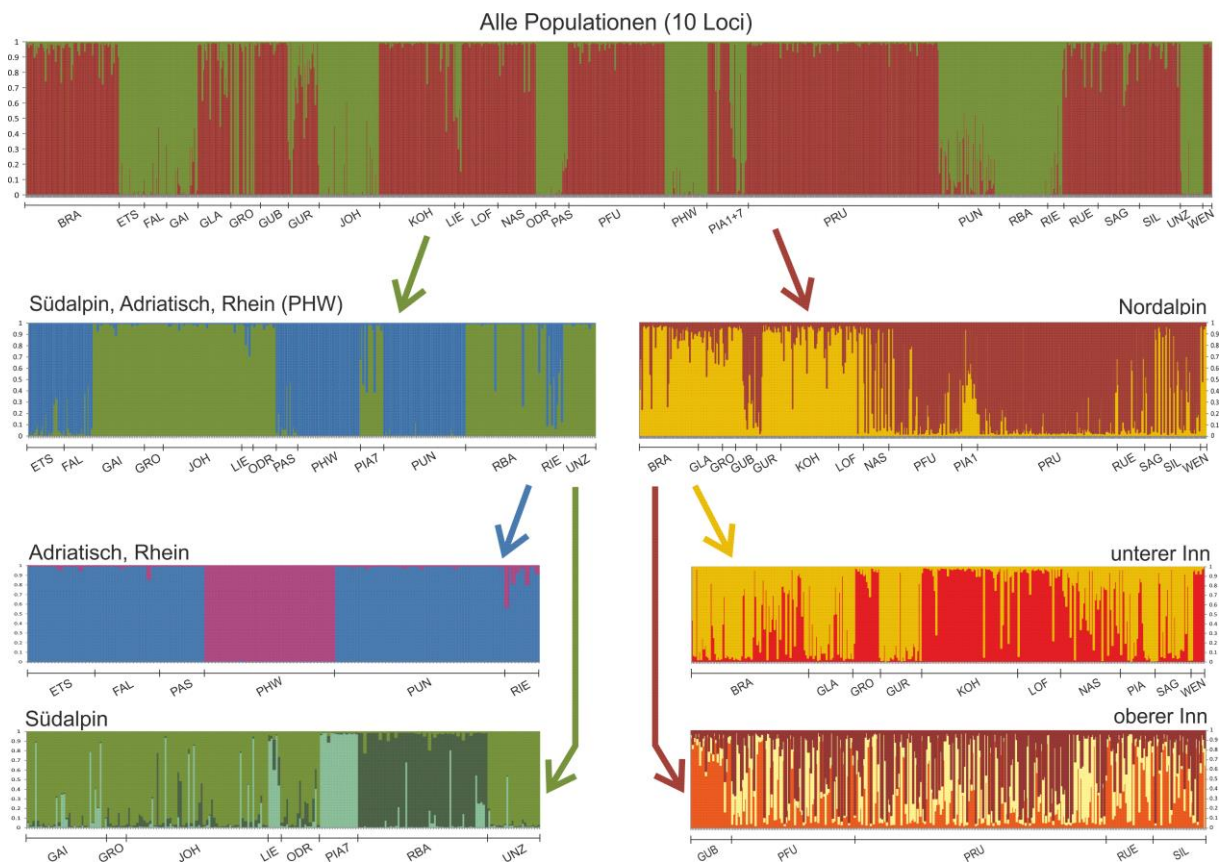


Abbildung 3. Hierarchische STRUCTURE Analyse von allen Populationen durchgeführt mit 10 Loci. Gezeigt sind vier Analyseebenen, wobei jeder Lauf einzeln durchgeführt wurde. Die wahrscheinlichste Zahl an (K) Einheiten ist dargestellt, welche auf dieser Ebene meistens K = 2 ist. Die verschiedenen K-Einheiten sind durch Farbe und korrespondierende „Q“-Werte (auf der Y-Achse dargestellt) gekennzeichnet.

Für die hierarchische Analyse wurde nun ein erneuter STRUCTURE Lauf mit jeder der beiden distinkten Einheiten einzeln durchgeführt (zweite Reihe in Abbildung 3). In diesem zweiten Schritt wurden die Südalpinen Populationen von den Adriatischen und Rhein (i.e. die

Lech Population PHW) Linien (linke Seite der Graphik) differenziert und es zeigt sich außerdem eine genetische Teilung zwischen einigen Populationen oder Individuen innerhalb der Nordalpinen Linie (rechte Seite der Graphik). Diese wurde in zwei genetische Einheiten aufgeteilt (rot & gelb), welche mehr oder weniger das obere und untere Tiroler Inn Einzugsgebiet repräsentieren, obwohl wenige bis gar keine Populationen komplett zu einer der beiden Einheiten zugeordnet wurden. In einem dritten Schritt wurde die STRUCTURE Analyse vier weitere Male durchgeführt. Die Resultate dieser Analysen sind in den Graphiken in der dritten und vierten Reihe von Abbildung 3 zu sehen. Auf der linken Seite ist gezeigt, dass sich nun die Adriatischen Populationen (blau) deutlich von sowohl den Südalpinen Populationen als auch von der einzelnen Population aus dem Lech Einzugsgebiet unterscheiden. Die adriatischen Populationen und die Lech Population sind relativ homogen (dritte Reihe in Abbildung 3), wobei die restlichen Populationen zusätzliche Struktur zeigen. In der vierten Reihe (linke Seite Abbildung 3) repräsentiert grün, nach bestem Wissen, Südalpine Referenz Genotypen (z.B. die Unzmarkt Populationen aus der Mur, siehe Weiss et al. 2013). Interessanterweise unterschieden sich die Reinbach Population (in dunkelgrün) und auch andere Südalpine Populationen von diesen Genotypen. Diese Unterschiede werden weiter unten in Zusammenhang mit den mtDNA Daten und allgemeineren Maßeinheiten paarweiser genetischer Differenzierung, diskutiert. In Bezug auf die Inn Populationen konnte STRUCTURE keine weitere klare Sub-Struktur erkennen, dies kann gleichermaßen an einer Schwäche des Programms als auch an allen möglichen anderen Gründen liegen. Die Benutzer der STRUCTURE Software werden darauf hingewiesen, dass der zur Erkennung von Sub-Struktur benutzte Algorithmus nicht optimal funktioniert, wenn es im Datensatz einen natürlichen geographischen Gradienten gibt. Weiter unten testeten wir auf solch einen Gradienten und diskutieren in weiterer Folge die Konsequenzen.

Neben der Zuordnung von einzelnen Populationen zu größeren regionalen Linien, und unabhängig von Introgression, können generelle Differenzierungsmessungen einiges über die Einzigartigkeit von jeder Population und über die grundlegenden Mechanismen, welche hinter dieser Differenzierung liegen, sagen. Dies kann mittels paarweisen F_{ST} und R_{ST} Werten (Anhang I und II) berechnet werden. Die F_{ST} Werte basieren nur auf den Allelfrequenzen allein, während die R_{ST} Werte die Allelgröße in die Differenzierung einfließen lassen wodurch höhere Werte bei unterschiedlicheren Allelgrößen errechnet werden. Die zwei Messungen sind analog und sollten, wenn Populationen in einem sogenannten Mutation-Drift Equilibrium (einem nur seltenen, wenn überhaupt jemals natürlich auftretenden Zustand) sind, in etwa zueinander gleich sein. Sind diese zwei Werte annähernd gleich, kann genetische Drift als Primärmechanismus angenommen werden, welcher für die Unterschiede zwischen zwei Proben verantwortlich ist. Wenn R_{ST} größer als F_{ST} ist, unterstützt dies die

Annahme, dass Mutationen (und somit längere Zeitperioden) für die Unterschiede zwischen zwei Proben, welche vom korrespondierenden F_{ST} Wert unterbewertet werden, verantwortlich sind. Obwohl diese beide Werte für jede Forschungsarbeit grundsätzlich einmalig sind, da sie von der Variabilität der Loci und verschiedener spezifischer Eigenschaften der Populationen beeinflusst werden, haben Populationsgenetiker eine generelle Faustregel entwickelt, wie sie die Differenzierungsgrade vergleichen können. Diese lautet wie folgt: **Werte < 0,05** werden als **sehr gering** erachtet – tatsächlich zeigt die Erfahrung, dass wenn ein Wert weit unter 0,05 liegt, Populationen mit Methoden, so wie der STRUCTURE Analyse, nicht mehr unterscheidbar sind. Werte von **0,05-0,15** werden als **moderat** eingestuft und sind typisch für Populationen innerhalb einer Art oder sogar innerhalb einer gleichen geographischen Linie, aber mit reduziertem Genfluss. Dies gewährleistet, dass Populationen mit statistischen Tests, wie der STRUCTURE Analyse getrennt werden können. Werte von **0,15-0,25** werden als **hoch** angesehen und wir nehmen an, dass dafür längere Zeiträume der absoluten Isolation zwischen Populationen notwendig sind. Schließlich werden Werte **< 0,25** als **sehr hoch** erachtet. Solche Werte treten gewöhnlich zwischen geographisch weit entfernten Populationen von unterschiedlichen Linien oder sogar unterschiedlichen Arten auf.

In unsere Studie reichen die meisten paarweisen Differenzierungsgrade, beim Vergleich der verschiedenen Einzugsgebiete, von moderat bis hoch mit Ausnahme der Inn Populationen (siehe unten). Der gesamte mittlere F_{ST} Wert innerhalb der Studie lag bei 0,154 und der der gesamte mittlere R_{ST} Wert bei 0,308. Der höhere R_{ST} Wert repräsentiert vor allem die größeren evolutionären Distanzen zwischen Populationen verschiedener Linien, wie z.B. der Danubischen und Adriatischen Linien. Allein beim Vergleich von Populationen z.B. aus dem Inn Einzugsgebiet haben wir tatsächlich niedrige Werte (i.e. mittlerer F_{ST} Wert = 0,027), wobei auch hier der R_{ST} Wert (0,078) höher war als der F_{ST} Wert.

Die meisten paarweisen Vergleiche waren statistisch signifikant, mit Ausnahme von manchen benachbarten Populationen (wie innerhalb des Inn Einzugsgebiets).

3.4 Allgemeine Indices genetischer Variabilität und geographische Verteilung- mtDNA

Im Fall der mitochondrialen Kontrollregion (CR) konnte bei 500 Individuen eine Gesamtsequenzlänge von 1066 Basenpaaren erhoben werden. Insgesamt wurden 29 einzigartige Haplotypen bestimmt, die den vorherig beschriebenen sechs Hauptgruppierungen angehören (Abbildung 4).

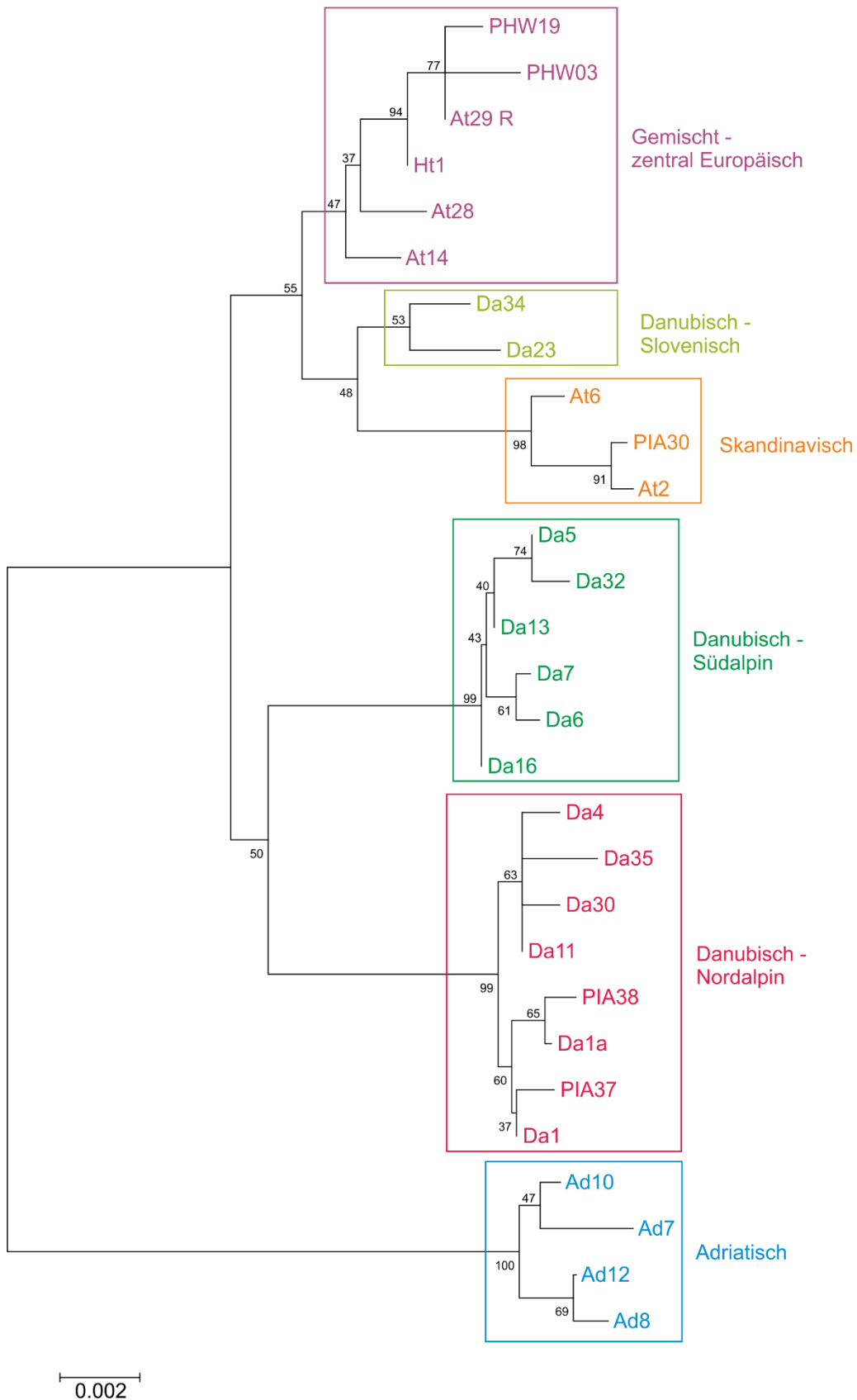


Abbildung 4. Neighbor-Joining Baum der 29 in dieser Studie gefunden, einmaligen CR Haplotypen, basierend auf einfachen p-Distanzen. Die Haplotypen gruppieren in die sechs Linien, welche bereits alle im Vorfeld von Weiss et al. (2002) oder Meraner et al. (2014) definiert wurden. Die Haplotypen-Nomenklatur stammt von diesen Arbeiten. Neu gefundene Haplotypen erhielten einen Code, der mit dem Populationsnamen korrespondiert.

In Abbildung 5 ist die Verteilung dieser sechs Gruppierungen über das Untersuchungsgebiet gezeigt. Dabei zeigt sich deutlich, dass die meisten Haplotypen aus der Nord- oder Südalpinen Gruppierung stammen (erstmalig beschrieben in Weiss et al. 2002). Die Haplotypen der Nordalpinen Gruppierung dominieren in den meisten Inn Einzugsgebiet Populationen, oder sind nur dort vorhanden. In der PHW Population findet man nur Haplotypen aus der Gemischten Zentraleuropäischen Gruppierung, welche in Österreich selten sind. Drei Adriatische Populationen (Etsch, Falschauer und Passer) werden von der Adriatischen Linie dominiert, mit leichter Beimischung aus der Nordalpinen und Südalpinen Linie. Die restlichen Adriatischen Populationen zeigen entweder einen hohen Grad an Vermischung (Puni) oder einen vollständigen Austausch (*replacement*) mit allochthonen Haplotypen (Piave Einzugsgebiet). Wir merken an, dass die obere Etsch Population, die mit nur einem nicht Adriatischen Haplotyp aus 16 sequenzierten Individuen nahezu für den Adriatischen Haplotyp fixiert ist, bereits von Meraner et al. (2014) erwähnt wurde und dass uns die Proben für diese Population großzügigerweise von den Autoren dieser Studie zur Verfügung gestellt wurden. Die Puni (PUN) und untere Piave (PIA1) Populationen sind von Nordalpinen Haplotypen dominiert, von welchen wir annehmen dass sie fremd im Adriatischen Einzugsgebiet sind. Die mittleren und unteren Ausläufe des Piave Einzugsgebiets zeigen steigende Anteile an Danubischen Haplotypen, welche vermutlich aus der Slowenischen Donau (oder von woanders aus dem Balkan Donau Einzugsgebiet) stammen. Allerdings kann die Herkunft dieser Vermischung nicht mit Sicherheit bestätigt werden. Der Reinbach (RBA) gehört zum östlichen Etsch Einzugsgebiet (vgl. auch Rienz, RIE), für welches bereits gezeigt werden konnte, dass es von der Südalpinen Äschenlinie beherrscht wird, welche Schätzungen basierend auf Approximate Bayesian Computation (ABC) zufolge vor nicht viel mehr als 116 Generationen eingebracht wurde (Meraner et al. 2014). Die Autoren dieser Schätzung nehmen an, dass die Äschen entweder das östliche Etsch Einzugsgebiet auf Grund von Isolationsbarrieren niemals natürlich besiedelten, oder dass sie durch Bergbautätigkeiten ausgerottet wurden. Vermutlich wurden die Äschen dann vor einigen hundert Jahren in dieses Gebiet durch Bestände aus dem Drau Einzugsgebiet wieder-eingebracht. Weiters vermuten wir, dass das niedrige Level an Introgression aus der Südalpinen Linie in das westliche Etsch Einzugsgebiet durch flussabwärts Wanderungen aus der östlichen Etsch stammt.

Die Kärntner und Osttiroler Populationen (JOH, LIE, ODR, GAI, GUR und GLA) mit Ausnahme von 15 Fischen aus der oberen Drau (ODR) zeigen alle unterschiedliche Grade an Introgression mit Nordalpinen Haplotypen (gezeigt in Weiss et al. 2013). Ein wenig überraschend war das Auftreten von zumindest einem Individuum mit Südalpinem Haplotyp innerhalb der KOH Populationsprobe, welche vorher als Referenzpopulation für die Nordalpine Gruppierung verwendet wurde.

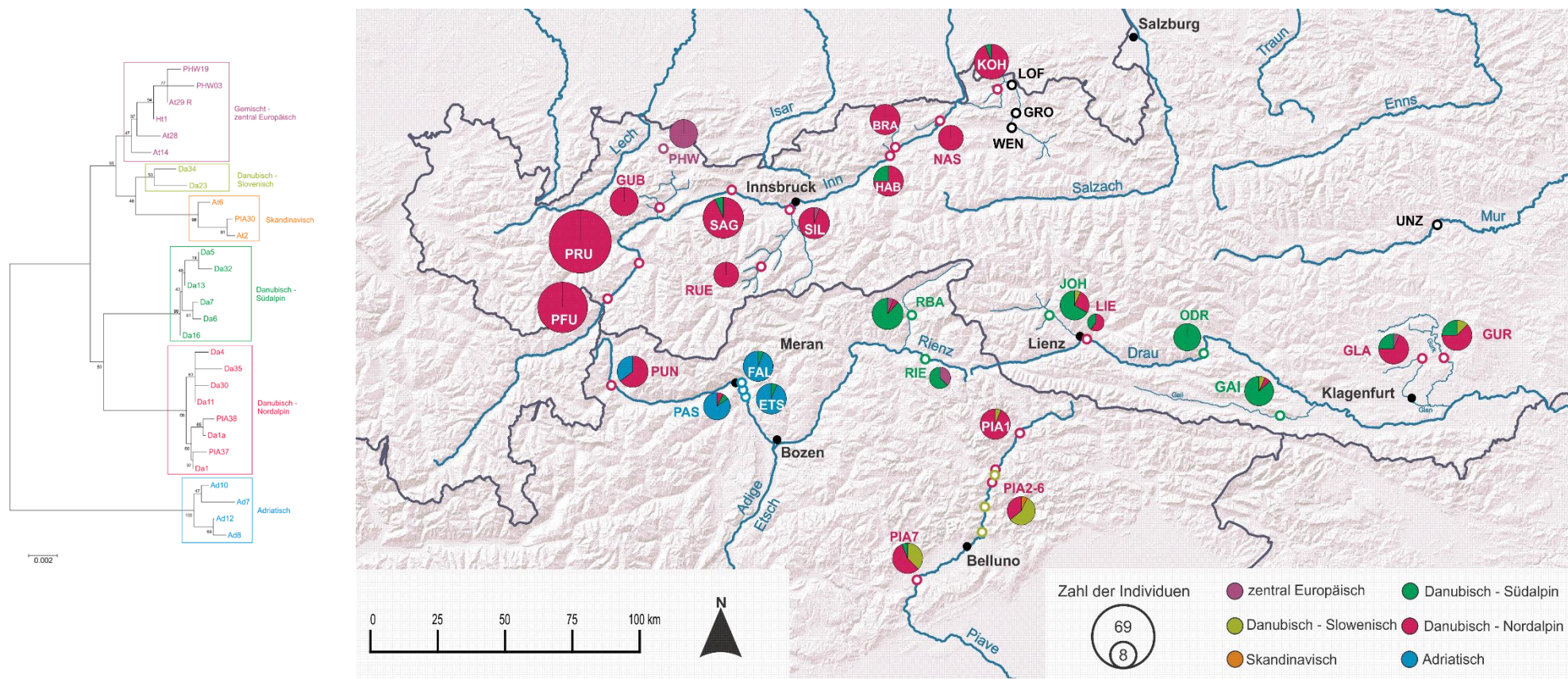


Abbildung 5. Die Karte zeigt den Neighbor-Joining Baum der einzigartigen Haplotypen und die Verteilung der mtDNA CR Gruppierungen, dargestellt in Form von Frequenz-Tortendiagrammen über das Untersuchungsgebiet hinweg. Die Kreisgrößen sind proportional zur Anzahl an Individuen, und die Farben repräsentieren die proportionale Häufigkeit der Haplotypen von fünf der sechs verschiedenen Gruppierungen aus Abbildung 4. Legende: Nordalpin (rot), Südalpin (grün), Gemischtes Zentraleuropa (violett), Adriatisch (blau), Slowenische Donau (hellgrün), Skandinavisch (orange). Bei den Probenahmestellen ohne Diagramm wurde in diesem Datenset nicht die gesamte Kontrollregion sequenziert (schwarze offene Kreise).

In Tabelle 3 ist die Verteilung der einzelnen Haplotypen über alle Populationen hinweg, gezeigt. Dabei ist deutlich, dass der Da1-Haplotyp der Nordalpinen Linie mit einem Auftreten von über 40% des Datensatzes den häufigsten darstellt. Zwölf ebenfalls vorgekommene Individuen mit skandinavischen Haplotypen sind nicht in der Karte gezeigt. Diese entstammen von zwei verschiedenen Aufzuchtstationen in Osttirol und wurden erstmalig von Weiss et al. (2002) aus Finnland stammend beschrieben. Es ist schwer nachzuvollziehen wie ein solches Material in die Region kommt oder was die ursprüngliche Motivation war, dass solch weit entfernte, fremde Bestände gekauft worden sind. Jedenfalls sind solche Haplotypen in den letzten Jahren immer wieder aufgetreten, was stark darauf hindeutet, dass zumindest ein kommerzieller Händler Fische von skandinavischem Ursprung verkauft.

Im Fall des mitochondrialen ATP VI Genes wurde eine Gesamtsequenzlänge von 665 Basenpaaren in 417 Individuen (den gleichen von welchen es auch CR Sequenzdaten gibt) erhalten. Das Gesamtausmaß an Diversität ist für dieses Gen im Vergleich zur CR nahezu ident, da auch hier 25 einzigartige Haplotypen aufgelöst wurden. Diese Sequenz ist jedoch kürzer, was auf eine höhere Substitutionsrate des ATP VI Genes im Vergleich zur CR in Äschen hinweist – wie bereits in Froufe et al. (2005) berichtet. Die Kombination der zwei Sequenzen zu einem zusammengefügtten Alignment (mit Gesamtsequenzlänge von 1734 Basenpaaren) ergab schließlich insgesamt 46 einzigartige Haplotypen. Dieses Ergebnis erhöht die Chance einer deutlich bessere Auflösung für Vergleiche zwischen Populationen auf regionalem Niveau (siehe nachstehende Inn-Detailstudie).

3.5 Detailstudie - Inn Einzugsgebiet

Da wir für das Inn Einzugsgebiet eine große Anzahl an Proben, sowohl aus dem Inn Fluss selbst, als auch aus einigen kleinen Inn Zubringern, von welchen manche als Laichgründe dokumentiert sind, zur Verfügung hatten, führten wir eine detailliertere Studie an diesem Einzugsgebiet durch. Im FRÜHLING 2014 wurde eine Boot Beprobungskampagne, welche über 22 km des Inn abdeckte, durch die BOKU durchgeführt. Wir sammelten genetisches Material entlang dieses Transekts und notierten die jeweilige exakte Lage mit dem Ziel einer räumlichen genetischen Analyse. Die Resultate dieser Analyse waren negativ für den oberen Inn Flusslauf zwischen Pfunds und Prutz und diese Populationen waren außerdem im Hardy-Weinberg Gleichgewicht (Daten nicht gezeigt). Es gab kein offensichtliches geographisches Muster zusätzlich zur Verteilung der CR Haplotypen. Allerdings fanden wir, den gesamten Lauf des Inn betrachtend (über 100 km), inklusive Zubringer, einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen geographischen und genetischen Distanzen ($r = 0.1839$; $P < 0.001$, Mantel Test) (Abbildung 6), basierend auf Mikrosatelliten Daten.

GENETISCHE CHARAKTERISIERUNG - ENDBERICHT

	Tirol												Kärnten				Italien/Südtirol							Osttirol				
	BRA	HAB	GUB	KOH	NAS	PFU	PRU	RUE	SAG	SIL	PHW	GAI	GLA	GUR	ODR	ETS	FAL	PAS	PIA	PUN	RBA	RIE	DEL	JOH	LIE	MOE		
Zentraleuropäisch Gemischt																												
PHW03																												
PHW19																												
At29																												
At28																												
At14																												
At15																												
Ht1																												
Skandinavisch																												
At2																												
At6																												
PIA30																												
Danubisch - Balkan																												
Da23																												
Da34																												
Danubisch – Nordalpin																												
Da1	14	6	11	12	6	28	49	10	20	10																		
Da1a																												
Da4	1																											
Da11	1	6	3	2	3	8	10	1	3	5																		
Da30																												
Da35																												
PIA37																												
PIA38																												
Danubisch – Südalpin																												
Da6																												
Da7																												
Da13																												
Da32																												
Da5																												
Da16																												
Adriatisch																												
Ad10																												
Ad7																												
Ad12																												
Ad8																												
Gesamt (500)	16	16	14	17	11	45	69	11	29	17	14	15	16	16	15	16	17	13	46	17	17	8	10	16	5	14		

Tabelle 3. Verteilung der Haplotypen über alle Populationen hinweg

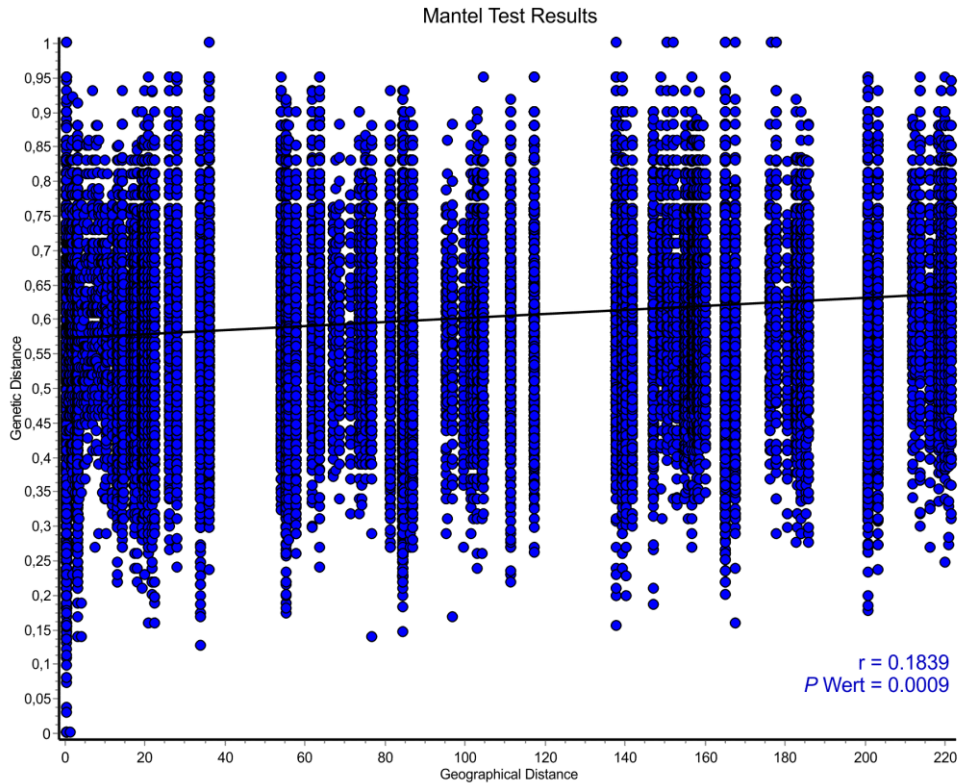


Abbildung 6. Bivariate Darstellung der geographischen und genetischen Distanzen entlang der gesamten Länge des Inn Einzugsgebietes in Tirol, generiert mit dem Programm Alleles in Space.

Auch wenn bekannt ist, dass das Programm STRUCTURE nicht optimal funktioniert, wenn es einen signifikanten geographischen Gradienten im Datenset gibt, analysierten wir diese Gruppe von Populationen aus dem Inn Einzugsgebiet um zusätzliche Struktur im Datenset zu finden. Wir entdeckten einen schwachen aber offensichtlichen Bruch in der Populationsstruktur, wobei die Populationen HAB, BRA, NAS und KOH am stärksten repräsentativ für den unteren Inn, PFU und PRU für den oberen Inn und SAG und SIL für dazwischen waren (Abbildung 7).

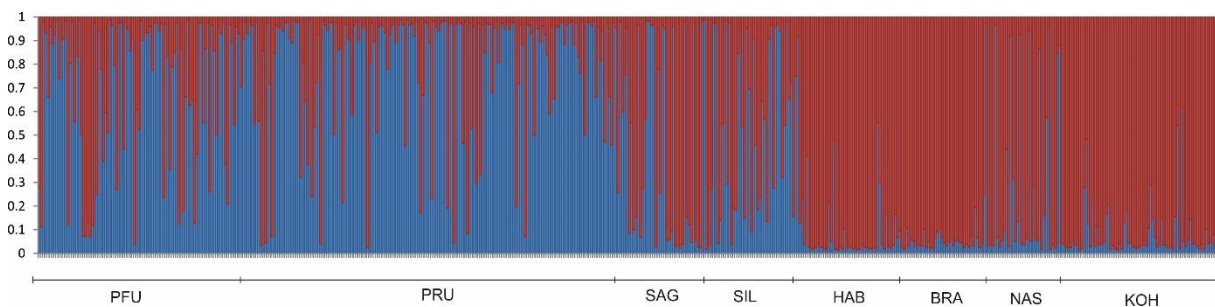


Abbildung 7. STRUCTURE Analyse der Proben entlang des Inn Flusses in Tirol, inklusive - wenn vorhanden - Proben aus mehreren Jahren. Die Graphik zeigt die als am wahrscheinlichsten errechnete Anzahl an Gruppen (K=2) basierend auf der Methode von Evanno et al. (2005).

Zusätzlich benutzten wir das kombinierte Alignment der CR und ATP VI mtDNA Gene um festzustellen ob es eine geographische Variabilität an diesem Marker entlang des Inn Flusses gibt. Die häufigsten Haplotypgruppen (grün und violett) wurden an allen Beprobungsstellen gefunden, allerdings beinhalteten vier der sechs Lokationen flussabwärts von PFU und PRU zusätzliche Haplotypen welche nicht nahe verwandt mit diesen, in der nordalpinen Region häufigen, waren (Abbildung 8).

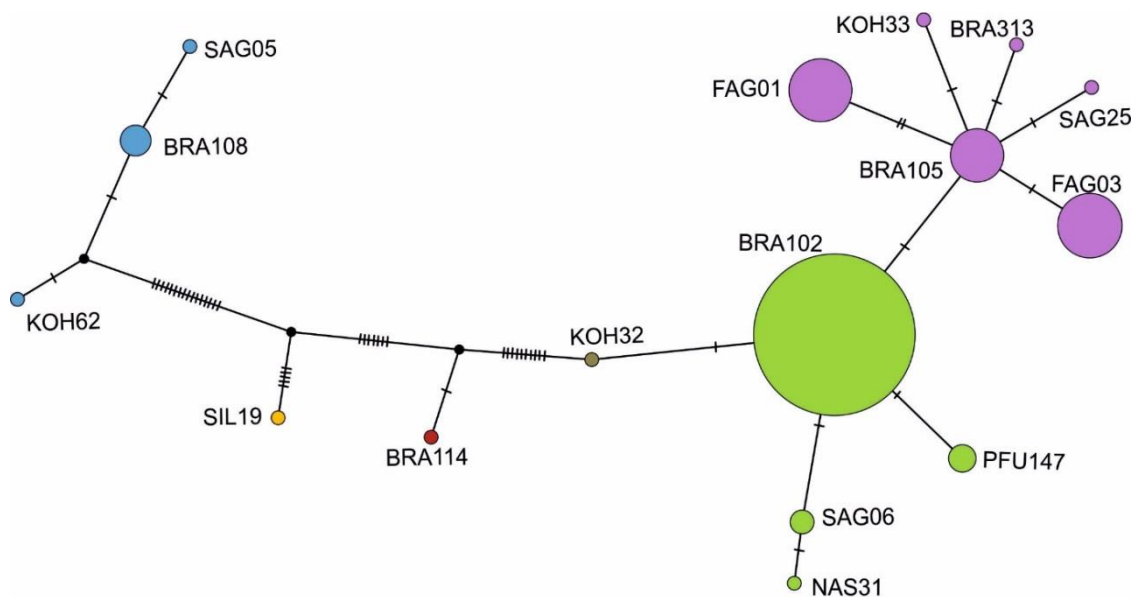
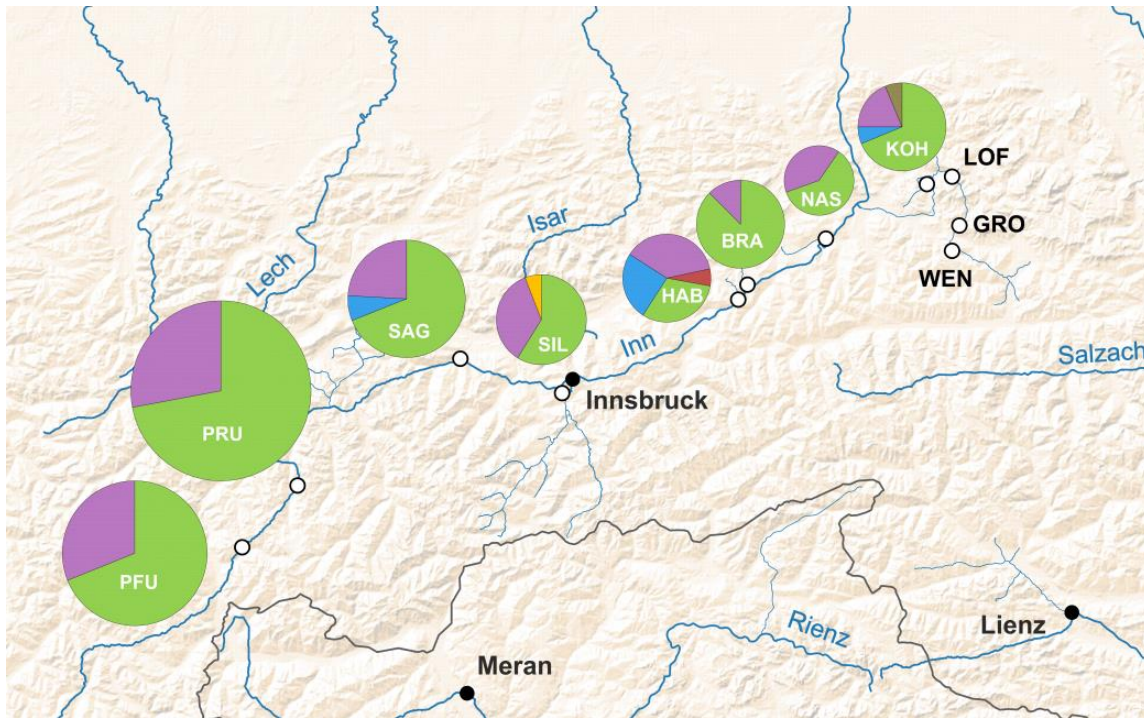


Abbildung 8. Karte der räumlichen Verteilung der kombinierten (CR & ATP VI) mtDNA Haplotypen entlang des Inn, zusammen mit einem TCS Netzwerk, welches die phylogenetische Verwandtschaft der Haplotypen darstellt.

3.6 Detailstudie - Piave Einzugsgebiet

Insgesamt 7 Lokationen entlang von etwa 80 km des Piave Einzugsgebietes wurden zwischen Aronzo di Cadora und Villapiana-rochena beprobt. Die Stellen sind vom Oberlauf des Gebietes (PIA1) bis flussabwärts kurz nach Belluno (PIA7) durchnummeriert (Abbildung 1, Tabelle 1). Es wurde ein statistisch signifikanter Gradient der genetischen Verwandtschaft entlang des Einzugsgebietes gefunden (Abbildung 9) und es wurde zusätzlich offensichtlich, dass die genetische Substruktur in dem Becken von verschiedenen Äsche Linien stammt. Nordalpine Haplotypen dominierten den oberen Flusslauf (PIA1), während ein höherer Anteil an vermeintlich Balkan Danubischen oder sogar Skandinavischen Haplotypen in den Lokationen PIA2 bis PIA 7 gefunden wurde.

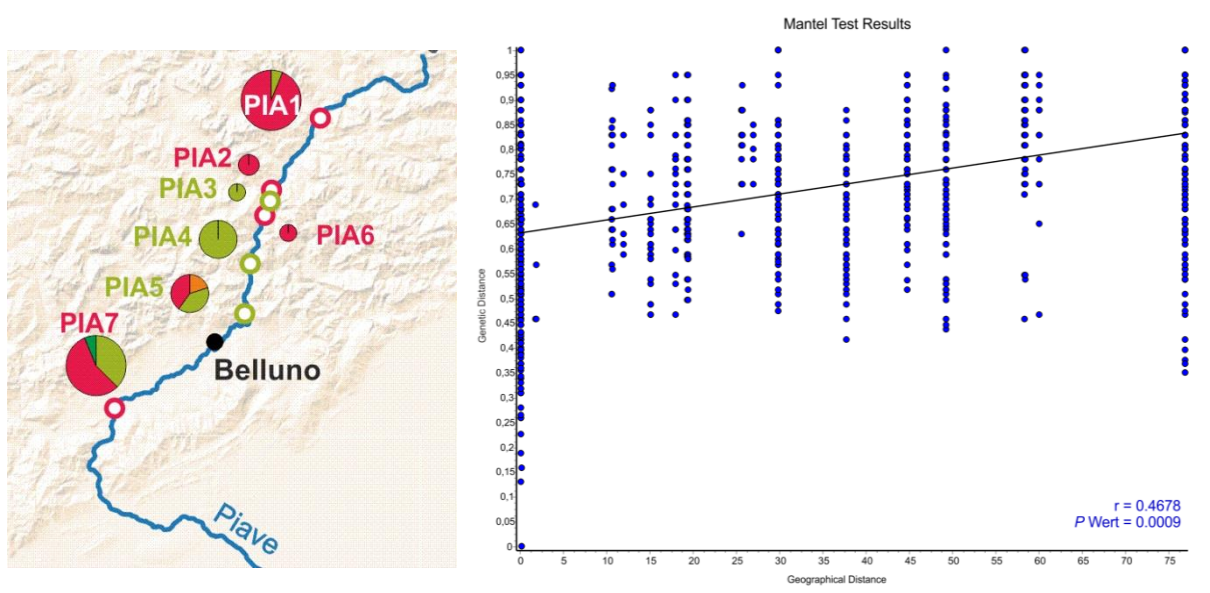


Abbildung 9. Links ist die Verteilung der CR Haplotypen, die entlang des Piave Einzugsgebietes gefunden wurden, dargestellt. Diese Graphik basiert ausschließlich auf CR Haplotypen und nicht auf einem kombinierten CR und ATP VI Datenset wie für das Inn-Einzugsgebiet. Rechts ist eine bi-variate Darstellung der geographischen und genetischen Distanzen entlang des Piave Einzugsgebietes gezeigt, welche mit dem Programm *Alleles in Space* generiert wurde.

3.7 Detailstudie - Piave Einzugsgebiet

Da wir annehmen, dass die meisten der Populationen in dieser Studie klein, fragmentiert und zu einem gewissen Grad durch anthropogene Manipulation beeinflusst sind, versuchten wir sowohl Signale von genetischem Bottleneck in der Population als auch die Familienstruktur zu evaluieren. Basierend auf dem Heterozygotie-Excess-Test fanden wir in keiner Population Anzeichen für genetische Bottleneck-Ereignisse (Tabelle 4). Mit dem so genannten „*within-locus*“ k Test allerdings, welcher am besten für die Detektion rezenterer Bottleneckereignisse geeignet ist, zeigten **19 (43%) der Populationen ein statistisch**

signifikantes Signal für ein rezentes Bottleneck-Ereignis. Die Werte waren hochsignifikant für die Populationen Nasenbach in Tirol, **Gail in Kärnten, Reinbach in Südtirol, Michelbach in Osttirol** und unsere Südalpine Referenzpopulation **Unzmarkt in der Steiermark** (Tabelle 4). Wie für jede unserer statistischen Auswertungen müssen wir davon ausgehen, dass die „Populationsprobe“ repräsentativ für die eigentliche wilde Population ist, damit unsere Folgerungen einen Wert haben. Im Gegensatz zu den Resultaten des „*within-locus*“ k Tests zeigte der sogenannte „g Test“, welcher optimal für die Reflektion älterer Bottleneck Ereignisse ist, keine statistisch signifikanten Resultate (Tabelle 4).

Die Evaluierung potentieller Familienstruktur innerhalb der Populationen erbrachte einige bemerkenswerte Ergebnisse. Die Standardvorgehensweise des für die Detektion von Geschwistern innerhalb einer Population verwendeten Programms COLONY identifiziert in einem ersten Schritt identische Genotypen. Wenn man das hohe Level an Polymorphismus und die hohe Anzahl der benutzten Mikrosatelliten bedenkt ist es nahezu unmöglich, dass sich zufällig identische Genotypen im Datenset befinden - somit bedeutet ein identischer Genotyp entweder, dass ein Individuum doppelt beprobt wurde, oder dass ein Fehler im Zuge der DNA Extraktion im Labor passiert ist. Die ersten Resultate zeigten ein Vorhandensein von 11 Duplikaten im Datenset auf (Tabelle 5). Wir können nicht mit Sicherheit sagen, dass manche dieser Duplikate auf Grund eines Fehlers im Labor entstanden sind (z.B. während der DNA Extraktion), allerdings involvierten diese 11 Proben keine Individuen mit angrenzenden Probennummern (was am ehesten auf einen Fehler im Labor hindeuten würde) und weiters stammen die meisten aus Tirol ($N = 8$). Wir vermuten, dass die meisten dieser Duplikate durch doppelte Probennahme oder durch Wiederfang desselben Fisches innerhalb derselben Beprobungskampagne zustande gekommen sind. Zwischen verschiedenen Beprobungskampagnen wurden keine Duplikate detektiert. Die Duplikate wurden in der Folge aus allen Analysen entfernt.

Tabelle 4. Flaschenhalseffekt-Statistik der analysierten Populationen. Gezeigt sind Populationskode, Name der Population, Anzahl der Proben (N), die Signifikanz für den Wilcoxon-Test („Heterozygote Excess Test“ unter dem zwei-Phasen-Model), die Signifikanzwerte für den k Test („*within-locus*“, deutet auf jüngere Vorgänge hin) und den g Test („*interlocus*“, weist auf ältere Vorgänge hin). Für die Evaluierung der Signifikanz für den g Test wurden in Abhängigkeit der Probengröße (Reich et al. 1999) *Cut-off* Werte zwischen 0,17 und 0,23 verwendet. Demzufolge ist keiner der Werte signifikant. ~ Kalkulationen wurden ohne Locus Tar101 durchgeführt.

Code	Population	N	Bottleneck Test Statistics		
			P-value Wilcoxon Test TPM	k-test (P-value)	g-test (value)
BRA	Brandenberger Ache	41	0.99854 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	0.5587
HAB	Habachbach	42	0.99316 ^{NS}	0.3406 ^{NS}	1.3041
GUB	Gurglbach	26	0.99951 ^{NS}	0.0449*	0.9182
KOH 1	Kohlenbach 1 (2004)	29	0.91992 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	0.9383
KOH 2	Kohlenbach 2 (2013)	40	0.99072 ^{NS}	0.0449*	0.8182
GRO	Großache	26	0.83887 ^{NS}	0.3406 ^{NS}	1.1435
LOF	Großache Lofer	30	0.99072 ^{NS}	0.0449*	0.8487
NAS	Nasenbach	37	0.99854 ^{NS}	0.0084**	0.8340
PFU 1	Pfunds 1 (2012)	14	0.93457 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	1.1789
PFU 2	Pfunds 2 (2013)	29	0.99512 ^{NS}	0.0449*	0.7616
PFU 3	Pfunds 3 (2014)	44	0.99512 ^{NS}	0.0449*	1.2463
PRU 1	Prutz 1 (2010)	42	0.99854 ^{NS}	0.0449*	0.6914
PRU 2	Prutz 2 (2013)	44	0.99854 ^{NS}	0.0449*	1.0035
PRU 3	Prutz 3 (2014)	31	0.98389 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	0.6678
PRU 4	Prutz 4 (2014)	27	0.93457 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	1.4033
PRU 5	Prutz 5 (2004)	28	0.99756 ^{NS}	0.0449*	0.7467
RUE	Ruetz	30	0.98389 ^{NS}	0.0449*	1.2745
SAG 1	Saglbach 1 (2012)	14	0.99316 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	1.3186
SAG 2	Saglbach 2 (2014)	24	0.99854 ^{NS}	0.0449*	0.9383
SIL	Sill	38	1.00000 ^{NS}	0.0449*	0.9166
WEN~	Wendbach	8	0.24805 ^{NS}	0.0449*	0.7043
PHW	Plansee, Heiterwanger See	38	0.99023 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	1.2125
GAI	Gail	31	0.99658 ^{NS}	0.0084**	1.1542
GLA	Glan	28	0.91992 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	1.2273
GUR	Gurk	29	0.94727 ^{NS}	0.9339 ^{NS}	1.0875
ODR	Upper Drau	15	0.71484 ^{NS}	0.3406 ^{NS}	0.8445
ETS~	Adige	20	0.99707 ^{NS}	0.0157*	0.8659
FAL	Falschauer	19	0.90332 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	1.7321
PAS	Passer	13	0.94727 ^{NS}	0.1484 ^{NS}	0.9449
PIA1	Piave 1	20	1.00000 ^{NS}	0.3406 ^{NS}	0.8081
PIA7	Piave 7	15	0.95801 ^{NS}	0.8024 ^{NS}	0.9342
PUN	Puni	50	0.99768 ^{NS}	0.5856 ^{NS}	1.1445
RBA	Reinbach	50	0.99951 ^{NS}	0.0084**	0.6016
RIE	Rienz	10	0.99658 ^{NS}	0.9339 ^{NS}	0.7456
DEL	Drau (Dellach Laue, Fischzucht)	10	0.45508 ^{NS}	0.3406 ^{NS}	1.6216
JOH	Michelbach	53	0.99756 ^{NS}	0.0084**	1.0096
LIE	Lienz	5	0.65234 ^{NS}	0.3406 ^{NS}	1.5832
MOE	Möll	25	0.99658 ^{NS}	0.0449*	0.7420
UNZ	Unzmarkt	20	0.96289 ^{NS}	0.0084**	0.8091

Die Vollgeschwisteranalyse ergab 24 Populationen mit zumindest einem Paar an Vollgeschwistern (Tabelle 5). Diese reichten von Populationen mit einem einzigen Vollgeschwisterpaar, sowie Gurglbach aus Tirol, bis zu **Habachbach, wo mehr als die Hälfte der 42 Individuen dieser Probe zu einer der sechs identifizierten Familien angehörte – wovon eine 10 Vollgeschwister beinhaltete (Tabelle 5)**. Eine andere Population in Tirol, **Großache, ergab, dass neun Individuen, innerhalb einer**

Probenanzahl von 26, Vollgeschwister sind, welche nur zu einer Familie gehören. Diese ist eine von Weiss et al. (2013) bereits untersuchte Probe, jedoch zu dieser Zeit wurde keine Vollgeschwisteranalyse durchgeführt. Trotzdem war diese Probe suspekt, weil sich darin zwei distinkte Linien, ohne einen Hinweis von Introgression zwischen ihnen, ergaben. Basierend auf dieser Analyse hatten wir den starken Verdacht, dass eine dieser Linien Fischbesatz von einem Zuchtverfahren, welches nur eine limitierte Zahl an Elternfische verwendete, darstellt. Viele andere Populationen, nämlich **Pfunds und Prutz aus Tirol, Michelbach aus Osttirol, Möll aus Kärnten und Puni und Reinbach aus Südtirol**, zeigten vier bis fünf Familien mit Vollgeschwistern in der Probe.

Tabelle 5. Die Resultate der Vollgeschwisteranalyse von den einzelnen Populationen mit dem Programm COLONY. Gezeigt sind der Populationscode, der Populationsname, Anzahl der Proben (N), Zahl der identifizierten Vollgeschwisterfamilien und die Zahl der Vollgeschwister in jeder dieser Familien. Die roten Zahlen repräsentieren identische Genotypen die im Rahmen dieser Analyse bestimmt wurden.

Code	Population	N	N, full-sib families	N, full-sib in each family
BRA	Brandenberger Ache	41	2	2/2
HAB	Habachbach	42	6	4/10/2/3/3/2
GUB	Gurglbach	26	1	2
KOH1	Kohlenbach 1 (2004)	29	2	2/2
KOH2	Kohlenbach 2 (2013)	40	1	2
GRO	Großache	26	1	9
LOF	Großache Lofer	30	0	
NAS	Nasenbach	37	0	
PFU 1	Pfunds 1 (2012)	14	0	
PFU 2	Pfunds 2 (2013)	32	7	2/2/2/2/2/2
PFU 3	Pfunds 3 (2014)	45	3	3/2/2
PRU 1	Prutz 1 (2010)	42	4	2/2/2/2
PRU 2	Prutz 2 (2013)	44	4	2/2/3/2
PRU 3	Prutz 3 (2014)	32	2	2/2
PRU 4	Prutz 4 (2014)	27	5	2/3/2/2/2
PRU 5	Prutz 5 (2004)	28	3	2/2/2
RUE	Ruetz	30	0	
SAG 1	Saglbach 1 (2012)	14	0	
SAG 2	Saglbach 2 (2014)	24	2	2/2
SIL	Sill	41	4	2/2/2/2
WEN~	Wendbach	8	0	
PHW	Plansee, Heiterwanger See	38	2	3/2
GAI	Gail	31	1	2
GLA	Glan	30	3	2/2/2
GUR	Gurk	29	2	2/2
ODR	Upper Drau	15	0	
ETS	Adige	20	1	2

GENETISCHE CHARAKTERISIERUNG - ENDBERICHT

FAL	Falschauer	19	0	
PAS	Passer	13	0	
PIA 1	Piave 1	20	0	
PIA 7	Piave 7	15	0	
PUN	Puni	50	4	2/2/2/2
RBA	Reinbach	50	4	2/2/2/2
RIE	Rienz	10	0	
DEL	Drau (Dellach Laue, Fischzucht)	10	0	
JOH	Michelbach	54	6	2/2/2/2/2
LIE	Lienz	5	0	
MOE	Möll	25	5	3/4/2/2/3
UNZ	Unzmarkt	20	0	

Mit Ausnahme von Reinbach, wo wir zurzeit keine Informationen haben, sind all diese Populationen an aktiven Bewirtschaftungsprogrammen beteiligt, wo Brutfische für Zuchtverfahren verwendet werden. Daher weisen die Proben, egal ob von Brutfischen oder deren Nachkommen, ein hohes Risiko an Inzucht auf.

Da einige von diesen Probenstellen nahe beieinander liegen, versuchten wir das Auftreten von Vollgeschwistern nach einem Zusammenlegen von nahegelegenen Proben festzustellen. Dieser Versuch **ergab viele gemeinsame Geschwister zwischen Prutz und Pfunds** aus dem oberen Inn, **zwischen Großache und Lofer** aus dem unteren Inn, und **zwischen Probenjahren aus Saglbach** (Tabelle 6). Wir weisen darauf hin, dass all dies Rückschlüsse statistischer Natur sind, welche durch Schätzungen der Allelfrequenzen in einer Population beeinflusst sind, und dass sie daher keine absoluten Zahlen sind, und zu Schwankungen neigen abhängig davon ob Proben zusammengelegt werden oder nicht. Nichtsdestotrotz, sind sie für bestimmte Populationen, die starken Bewirtschaftungsmaßnahmen ausgesetzt sind, von erhöhtem Belang. Die Resultate für jede individuelle Population betreffend Probengröße, HWE-Tests, mögliche Struktur und Flaschenhalseffekt- und Verwandtschaftsstruktur-Tests werden separat in Anhang III gezeigt.

Tabelle 6. Die Resultate der Vollgeschwisteranalyse mit dem Programm COLONY nach dem Zusammenlegen von verschiedenen Standorten und Zeitpunkte der Probennahme von den Populationen Oberer Inn, Großsache und Saglbach. Gezeigt sind die Zahl (N) an Vollgeschwistern für jede Familie und deren entsprechende Zugehörigkeit zu zwei Standorten oder Zeitpunkten der Probennahme.

<i>Upperr Inn - Pfunds (2012-2014) and Prutz (2004-2014)</i>			
Full-sib family	N full-sibs total	from Pfunds	from Prutz
1	3	2	1
2	3	3	
3	2	2	
4	2		2
5	2	1	1
6	2		2
7	3	2	1
8	2		2
9	2	1	1
10	2		2
11	2		2
12	2		2
13	3		3
14	3		3
15	3		3
16	6		6
17	7	1	6
18	2	1	1
19	2	1	1
20	2		2
21	2	2	
22	2	2	
23	2	1	1
24	5	2	3
25	2	2	
26	2	2	
27	2	1	1
28	4	4	
29	2	2	
30	3	3	
31	2	2	
32	2	1	1
33	2		2
34	2		2
35	2		2
36	2		2
37	2		2

Tabelle 6 fortgesetzt. Die Resultate der Vollgeschwisteranalyse mit dem Programm COLONY nach dem Zusammenlegen von verschiedenen Standorten und Zeitpunkte der Probennahme von den Populationen Oberer Inn, Großache und Saglbach. Gezeigt sind die Zahl (N) an Vollgeschwistern für jede Familie und deren entsprechende Zugehörigkeit zu zwei Standorten oder Zeitpunkten der Probennahme.

Großache - Großache (2004) and Lofer (2004)			
Full-sib family	N full-sibs total	from Großache	from Lofer
1	9	9	
2	2	1	1

Saglbach – Saglbach 1 (2012) and Saglbach 2 (2014)			
Full-sib family	N full-sibs total	from Saglbach 1	from Saglbach 2
1	2	1	1
2	2	2	
3	4	1	3
4	4	1	1
5	2		2

4. BEWIRTSCHAFTUNGSEMPFEHLUNGEN

Unsere Vorschläge konzentrieren sich auf zwei wesentliche Angelegenheiten. Erstens, die Anregung von einer mehr wissenschaftlich basierenden, nachhaltigen Bewirtschaftung mit den existierenden natürlichen Ressourcen, die in jeder Region verfügbar sind, und zweitens die Beratung welche Besätze für was und welche Verfahren zu verwendet sind, wenn mehr manipulative Bewirtschaftungsverfahren als notwendig erachtet werden.

Hinsichtlich des ersten Punktes, zeigt sich, dass unsere Meinung in der wissenschaftlichen Gemeinschaft weitverbreitet ist, nämlich dass Aufzucht und Besatz durch Material aus Zuchtanstalten als letzter Ausweg in der Fischereibewirtschaftung genutzt werden sollten. Jedoch stellen wir fest, dass in Zentraleuropa eine Bewirtschaftung ohne Besatz in Salmonidengewässern selten praktiziert wird. Wir vermuten stark, dass dies nicht aufgrund von völligem Mangel an Habitaten, welche geeignet sind, die natürliche Reproduktion und eine nachhaltige Fischerei zu unterstützen, basiert, sondern eher auf einer Kombination aus Tradition, Missverständnis und den ökonomischen Rahmenbedingungen beruht. Fische aus

Zuchten, aber auch Zucht-Wild Hybriden, überleben nahezu immer bedeutend kürzer als Wildfische (Harbicht et al. 2014). Experimentelle Besätze zeigen Überlebensraten von weniger als 0% (e.g. Näslund 1998), oder < 1% über eine 12 monatige Periode für Bachforellen (Weiss & Schmutz 1998), welche nur beispielhaft für eine umfangreiche Literatur zu diesem Thema sind. Während Daten über Äschen im Vergleich zu Forelle, Lachs und Saibling, sehr spärlich sind, entdeckten Turek et al. (2010) unlängst, dass ein Überleben von Teich-aufgezogenen oder aus Aufzuchtstationen stammenden Äschen um die Hälfte kürzer ist als von Wildfischen, und Horká et al. (2015) zeigten unter experimentellen Bedingungen ein gesteigertes Migrationsverhalten und eine nachlassende Antwort auf Umweltsignale von Zucht- versus Wild-Äschen. Obwohl es bisher noch nicht publiziert wurde, untersuchte ersterer Autor die genetische Integrität von Äschenbesätzen aus dem oberen Vienne Becken des Loire Einzugsgebietes in Frankreich, welches einem 50jährigen Besatz, oftmals mit fremden Aufzuchtlinien, ausgesetzt war. Das Ergebnis zeigte, dass es dort keinen Hinweis auf Introgression von irgendeiner dieser Fremdbesätze gibt (Persat et al., unveröffentlichte Daten). Während diese spezielle Situation einzigartig sein mag, unterstützt es unsere Ansicht, dass Besätze von Äschen eine geringere Überlebensrate haben. Diese Resultate weisen darauf hin, dass Generalisierungen auf die Leistung und die Verhaltensunterschiede von Zucht- versus Wild -Fisch, wie es bereits für andere Salmoniden gefunden wurde, wahrscheinlich auch für Äschen zutreffend sind.

In einem kürzlich durchgeführten genetischen Screening von Äschen aus dem Vereinigten Königreich, kamen Dawnay et al. (2013) zu dem Schluss, dass der Besatz von Populationen der letzte Ausweg von möglichen Bewirtschaftungsoptionen sein sollte. Zusätzlich schlugen die Autoren vor, obwohl all ihre Besätze zu den Zentraleuropäischen mtDNA Linien gehörten (analog zu unserer PHW Population aus dem Lech Einzugsgebiet), dass Populationen ihrerseits als Bewirtschaftungseinheit angesehen werden sollten. Folglich sollte, falls die Entwicklung eines Brutbesatzes notwendig ist, dieser aus dem Fluss welcher Ziel der Bewirtschaftung ist, kommen. Der offene (und Großteils private) unkontrollierte zentraleuropäische Markt macht solche Bewirtschaftungsperspektiven extrem schwierig, aber wir raten nichtsdestotrotz eindringlich von großräumigem Verkauf, Transport und Freisetzung von Äschenbesätzen über Flusseinzugsgebiete ab.

In unserer Arbeit, haben alle drei Hauptregionen (Südtirol und Belluno, Italien, Tirol und Kärnten, Österreich) ihre eigenen heimischen Äschenlinien, welche sich in hohem Maße unterscheiden (e.g. die **Nordalpine für das Inn Einzugsgebiet, die Südalpine für das Drau Einzugsgebiet in Osttirol und Kärnten, und die Adriatische für den Etsch Einzugsbereich in Südtirol**). Im Falle der meisten Gebiete (mit Ausnahme von Belluno) gibt

es zumindest einige Ursprungspopulationen, welche die originale genetische Zusammensetzung dieser Linien weitgehend repräsentieren. Diese sollten so gut wie möglich von jeglichen Besatzmaßnahmen geschützt werden, vor allem von Fischbesatz aus anderen Populationen. Hier empfehlen wir die Einbindung der ökologischen Analyse, und die Bestimmung welche Systeme oder Anteile der Einzugsgebiete in jeder dieser Regionen eine natürliche Reproduktion beinhaltet. Mithilfe dieser Informationen sollten Bewirtschafter ein Konzept entwickeln, welche Laichgebiete und zugehörige Flussabschnitte sich selbsterhalten könnten. Sind diese definiert, sollten sie eine Probewirtschaftungszeit ohne Besatz von zumindest fünf Jahren entwickeln. Nach dieser Probe, kann eine Beurteilung des Besatzes gemacht werden um die Auswirkungen von diesem Probelauf zu bestimmen. Während solch ein Vorhaben für manche sehr drastisch klingen mag, ist dies in der Realität eine übliche Vorgehensweise in vielen Gebieten auf der Welt und könnte wahrscheinlich ökonomische Einsparungen einbringen, welche für die Verbesserung der Standortbewirtschaftung, Erwerb von Land oder anderer Rechte nutzbringend für Langzeitschutz, verwendet werden könnten.

Für Fischereien, die feststellen dass eine Bewirtschaftung basierend auf natürliche Reproduktion unmöglich ist, gibt es einige Alternativmöglichkeiten zu gegenwärtigen Strategien, wovon einige bereits verwirklicht worden sind, aber vielleicht nicht auf optimale Weise. Hierbei muss erkannt werden, dass es keinen absoluten Ersatz für natürliche Reproduktion gibt, und alle Methoden die genetischen Ressourcen durch die kombinierten Effekte von Inzucht, Domestikation und veränderter Partnerwahl gefährden. Zum Beispiel, sogar im Inn Einzugsgebiet, wo Bewirtschaftung offensichtlich fast nur oder ausschließlich mit heimischem Besatz durchgeführt wird, und das Abstreifen von wild-gefangenen Rognern stattfindet, gibt es Hinweise auf beides, Inzucht und zwischen-jährliche Alleländerungen, welche am wahrscheinlichsten von künstlicher Partnerwahl herrühren. Es wäre höchst interessant zu bestimmen, was die natürliche Reproduktion in diesem System unterstützen würde und ob die Bewirtschaftung, basierend ausschließlich auf natürliche Reproduktion, Genotypen begünstigt, die besser an das System angepasst sind und die nicht durch das gegenwärtige Bewirtschaftungssystem gefördert werden? Im Fall des Lech Einzugsgebietes in Tirol ist scheinbar kein Äschenbesatz vorhanden und die Frage betreffend Rehabilitationsmaßnahmen kann aufgeworfen werden, vorausgesetzt die mutmaßlichen Umweltprobleme (siehe ökologisches Gutachten) können unter Kontrolle gebracht werden. Bedauerlicherweise haben wir keine genetischen Basisdaten über die Zusammensetzung der originalen Äsche aus dem oberen Lech Einzugsgebiet. Logischerweise würde die obere Inn-Äsche die wahrscheinlichste Quelle des genetischen Materials darstellen, wenn ein Wiederbesatzprogramm in Betracht gezogen würde. Jedoch könnte man auch Proben aus

den unteren Flussabschnitten von Lech oder einem entsprechenden Zufluss aus Deutschland untersuchen um zu bestimmen, ob die aus dem Lech Einzugsgebiet stammende Äsche sich signifikant von der aus dem oberen Inn unterscheidet. Hierbei würden wir empfehlen, dass genetische Profile dieselben Loci und Abläufe verwenden, sowie sie in dieser Studie von uns angewendet wurden. Egal welche Quelle als beste bestimmt wird, wenn ein Wiederbesatzprogramm initiiert wurde, schlagen wir in hohem Maße vor, dass alle Brutfische vor dem Wiederbesatz genotypisiert werden, damit ein genetisches Langzeitmonitoring eingeleitet werden kann. Ein kontrollierter Wiederbesatz und ein kontrolliertes Monitoringprogramm (über einige Jahre) könnten in der Lech ein ideales Modell liefern um eine Reihe von Fragen zu beantworten, inklusive jener, die in Bezug auf den jeweiligen Beitrag und das Überleben von Zuchtergänzung versus natürlicher Reproduktion. Für Osttirol und Kärnten ist der derzeitige Wissensstand bezüglich Bewirtschaftung sehr diffus, weil eine Vielzahl an Bewirtschaftern und Besitzern beteiligt sind und ein umfassender Überblick durch dieses Projekt bis jetzt nicht erlangt werden konnte, da Kärnten kein vollständiger Partner dieses Projektes war. Jedoch bieten genügend Daten als auch frühere Untersuchungen eine Unterstützung, um eine geringe Basis zu schaffen, die hilfreiche Rückschlüsse zulassen. **Auf der positiven Seite gibt es eine direkte Unterstützung, dass rein heimische Südalpine Besätze im Drau Einzugsgebiet existieren.** Dies beruht sowohl auf diese Studie (obere Drauprobe, ODR) als auch eine Feldprobe von jungen Äschenbruten, entnommen nahe der Quelle der Drau (Meraner et al. 2013). Diese Daten setzen sich entgegen den Ergebnissen von anderen Orten im Einzugsgebiet, welche auf frühere Daten von Duftner et al. (2005) und Weiss et al. (2013) basieren. Diese neuesten Ergebnisse mögen zum Teil das Resultat von steigenden Bewirtschaftungsbemühen sein, welche auf heimische Besätze und/oder Heterogenität im System konzentriert waren, kombiniert mit Fragmentierung und etwas Widerstandsfähigkeit von heimischen Linien. Auf jeden Fall ist diese Information viel versprechend und sollte Motivation liefern um diese heimischen Genpools zu schützen, und wo es notwendig ist, diese anstelle von einfacher erhältlichen und wahrscheinlich introgressierter Zuchtbesätze für Aufzuchtstätigkeiten zu nutzen.

Für das **Etsch Einzugsgebiet in Südtirol** müssen wir zwischen einer vermutlich unnatürlichen Situation im östlichen Teil des Einzugsgebietes im Vergleich zum westlichen Einzugsgebiet, wo einige vorwiegend heimische Besätze gefunden wurden, unterscheiden. Wenn **im Fall des östlichen Etsch Einzugsgebietes** (z.B. RIE, RBA) **angenommen** wird, dass die **Hypothese von Meraner et al. (2012) richtig ist** und **diese Fische von historischer (oder gar mittelalterlicher) Translokation stammen**, ist die einzige logische Bewirtschaftungsstrategie diese Besätze in Ruhe zu lassen, da sie überlebt hatten und sich

wahrscheinlich an diese vorher freien Nischen seit mehreren hundert Jahren oder mehr angepasst haben. **Es ist weder praktisch noch logisch es zu versuchen, dass diese Besätze mit dem Adriatischen Genpool wiederbesetzt werden.** Also repräsentieren sie, obwohl sie nicht heimisch sind, **einen gut angepassten Genpool in einem natürlichen Milieu.** Bedauerlicherweise kann eine Emigration flussabwärts nicht verhindert werden, aber es sollte eine genauere Untersuchung des Potenzials oder der vorhandenen Migrationsbarrieren zum westlichen Etsch Einzugsgebiet durchgeführt werden, um zu evaluieren ob es eine natürliche oder sogar anthropogene Barriere gibt, welche Introgression vom östlichen zum westlichen Etsch Einzugsgebiet verhindert. Im Fall des westlichen Einzugsgebietes zeigen unsere Daten (ebenso wie jene von Meraner et al. 2014), dass verschiedene Besätze von reinen bis beinahe reinen adriatischen Äschen in der Tat existieren. Jedoch ist eine derzeitige Zucht-Ursprungspopulation (Puni), welche in Südtirol verwendet wird, in hohem Maße gemischt. Wir raten von einem weiteren Gebrauch dieser Population ab und regen an, dass eine Bewirtschaftung mittels einem neuen adriatische Zuchtbrutbestand entwickelt werden soll, welche auf die genetischen Informationen, die in dieser Arbeit vorgelegt werden, basieren. Für das Piave Einzugsgebiet in Belluno besitzen wir nicht genügend Informationen hinsichtlich der historischen oder gegenwärtigen Verwendung von Zuchtbeständen, aber es werden verschiedene Fremdquellen durch die Daten unterstützt, und zeigen beinahe keine Spur der adriatischen Äsche. In diesem Fall ist es nötig, die ökologischen Bedingungen zu überprüfen, um die Durchführbarkeit von der Wiederherstellung oder Begünstigung der natürlichen adriatischen Linie zu bestimmen. Wenn zwar die Bestände sehr gering, jedoch die ökologischen Bedingungen in einigen Flussabschnitten adäquat sind, könnte man einen Wiederbesatz mit Brutmaterial aus der westlichen Etsch in Betracht ziehen. Jedoch ist es mehr als wahrscheinlich nicht geeignet, eine Linie in ein Einzugsgebiet, welches bereits von anderen Linien besetzt ist, wiederzubesetzen zu versuchen. Und es macht eventuell mehr Sinn das System so gut wie man es mit den momentan genetischen Ressourcen kann zu verwalten. Diese Situation steht in Gegensatz zu jener die in Lech in Tirol gefunden wurde, wo keine Äschen vorhanden sind.

Generelle Anmerkungen zur Bewirtschaftung des Brutbestandes von Äschen

Es gibt den generellen Konsensus, dass es beinahe unmöglich ist, einen Brutbestand an Salmoniden ohne den Verlust an etwas genetischer Variation und/oder der Einbeziehung von Domestikation in den Genpool aufrechtzuerhalten. Hinzu kommt noch die generell geringe Überlebensrate von Salmoniden aus der Zucht. Deswegen raten wir von einem blinden Vertrauen auf Zuchtbestände ab. Jedoch falls ein Brutbestand aufrechterhalten werden soll, beispielsweise zur Verwendung von Wiederbesatzprogrammen, dann sollte die

Zahl an Eltern so hoch wie möglich sein, wie zum Beispiel 100-200. Wir geben zu, dass dies eine ganze Menge an Anstrengung zum Aufbau und Erhalt erfordert. Hinzu kommt, dass Äschen (wie viele Salmoniden) in der Natur polygynandrisch sind (Haddeland et al. 2015), was bedeutet, dass beide, Männchen und Weibchen, sich ständig mit mehreren Partnern paaren. Das steigert die effektive Populationsgröße in freier Wildbahn und puffert gegen Inzucht, welche wir als wesentlichen Belang in Zusammenhang mit Äschenbesatz in der Region aufzeigen. Es ist jedoch keine gute Strategie den Versuch zu unternehmen, Polygynandrie im Zuchtaufbau zu fördern, da es wahrscheinlich ist, dass Spermienkonkurrenz unter anderen unbekanntem Faktoren bestimmte Pärchen eliminieren und/oder schlecht-angepasste Genotypen begünstigt. Dies würde in weiterer Folge zu einer rapiden Abnahme in der effektiven Populationsgröße oder der genetischen Degeneration der Bestände führen. Daher sind einzelne Pärchen oder „*split-batch*“ Paarungen (die Eier von einem Weibchen werden in Gruppen geteilt und mit verschiedenen Männchen befruchtet) die besten Strategien um die effektiven Populationsgrößen zu erhalten oder maximieren. Dies erfolgt um die Zahl an beigetragenen Eltern zu maximieren und die Familiengröße auszugleichen, welche beiderseits einen Beitrag zu einer hohen effektiven Populationsgröße liefern.

Die Alternative zum Erhalt eines Brutbestandes und die Methode, die am seltensten zu eine Domestikation führt, ist die Verwendung von Ei-Cocooning (Holzer et al. 2004). Letztgenannte Autoren liefern auch eine nette deutsche Zusammenfassung sowohl über die Probleme, welche mit der Bewirtschaftung (basierend auf künstliche Reproduktion) erzeugt werden, als auch einen Leitfaden für die Optimierung. Nichtsdestotrotz ist das Problem von natürlicher Partnerwahl mit Cocooning weiterhin nicht behoben.

Eine kurze Liste von ein paar einfachen Bewirtschaftungsvorschlägen:

- 1) Unterbinden von sämtlichem Einzugsgebiet-übergreifendem Transfer von Äschenbeständen (dies wurde bereits in den letzten Jahren reduziert).
- 2) Versuch bei mindestens ein paar Probeflüsse eine besatzfreie Bewirtschaftungspolitik für eine (mindestens) 5-Jahres-Periode umzusetzen und dann die Ergebnisse zu kontrollieren.
- 3) Identifizierung von natürlichen Laichplätze und die Sicherstellung eines maximalen Schutzes für sie über die Periode des Laichens bis zum Schlüpfen – zum Beispiel gegen Räuber oder irgendeine andere Form von Störung.
- 4) Bestimmung ob diese Laichplätze einen Beitrag zu Beständen von größeren angrenzenden Flüssen/Populationen leisten können, und falls es eine Barriere gibt, Möglichkeiten der Behebung in Erwägung ziehen.
- 5) Für jede Region: Nutzung des natürlichen genetischen Materials (identifiziert in dieser Studie) für die Bewirtschaftung von Brutbeständen.

- 6) Für Zuchtverfahren: Verwendung von einzelnen Pärchen, oder „*split-batch*“ Paarung in Zuchtbetrieben um die Zahl an Elternpaaren zu maximieren, an Stelle von mehreren Männchen mit einzelnen Weibchen.
- 7) Initiierung einer möglichen Strategie für einen Wiederbesatz-Modellplan im Fall der oberen Lech in Tirol
- 8) Ersatz des Puni Bestandes durch eine andere reinere adriatische Population für strategische Zuchtzwecke
- 9) Anwendung von „*Cocooning*“, um einige Zuchtprogramme zu ersetzen.
- 10) Entwicklung von einigen Pilotprogrammen (eines für jede Region), wo der **gesamte Brutbeitrag** für einen gewissen Fluss genetisch überwacht ist, und dann in der Folge der Fluss über 1-2 Generationen beprobt wird um eine direktere Messung von Zucht- versus Wild-Beitrag zu den Beständen zu erhalten. Wenn ALLE Eltern überwacht sind, kann dies ziemlich sorgfältig getan werden.

5. LITERATURVERZEICHNIS

- Bernatchez L (2001). The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution* **55**(2), 351–379.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (1996–2004). *GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations*, Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bilgin R (2007). Kgtests: a simple Excel Macro program to detect signatures of population expansion using microsatellites. *Molecular Ecology Notes* **7**(3), 416–417.
- Cattaneo F, Winkler K, Grimardias D, Persat H, Weiss S (2011). Caractérisation Génétique des Populations D'Ombre Commun (*Thymallus thymallus* L.) de Suisse et France Transfrontalière, Applications à la conservation et à la gestion de l'espèce. Hesso Geneve Haute Ecole Spécialisée de Suisse occidentale. 76 pp.
- Dawnay, N., Dawnay, L., Hughes, R. N., Cove, R. & Taylor, M. I. (2011). Substantial genetic structure among stocked and native populations of the European *T. thymallus* (*Thymallus thymallus*, Salmonidae) in the United Kingdom. *Conservation Genetics* **12**, 731–744.
- Diggs MD, Ardren WR (2008). Characterization of 12 highly variable tetranucleotide microsatellite loci for Arctic grayling (*Thymallus arcticus*) and cross amplification in other *Thymallus* species. *Permanent Genetic Resources* **8**, 828–830.
- Duftner N, Koblmüller S, Weiss S, Medgyesy N, Sturmbauer C (2005). The impact of stocking on the genetic structure of European *T. thymallus* (*Thymallus thymallus*, Salmonidae) in two alpine rivers. *Hydrobiologia* **542**, 121–129.
- Englbrecht C, Schliwen U, Tautz D (2002). The impact of stocking on the genetic integrity of Arctic charr (*Salvelinus*) populations from the Alpine region. *Molecular Ecology* **11**, 1017–1027.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**, 2611–2620
- Froufe E, Knizhin I, Weiss S (2005). Phylogenetic analysis of the genus *Thymallus* (grayling) based on mtDNA control region and ATPase 6 genes, with inferences on control region constraints and broad-scale Eurasian phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**, 106–117.
- Garza JC, Williamson EG (2001). Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology* 2001, **10**, 305–318.

- Goudet JM (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3) <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>; updated from Goudet 1995.
- Gross R, Kühn R, Baars M, Schröder W, Stein H, Rottman O (2001). Genetic differentiation of European grayling populations across the Main, Danube and Elbe drainages in Bavaria. *Journal of Fish Biology* **58**, 264-280.
- Jones OR, Wang J (2009). COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources* **10(3)**, 551-555.
- Junge C, Primmer CR, Vøllestad LA, Leder EH (2010). Isolation and characterization of 19 new microsatellites for European grayling, *Thymallus thymallus* (Linnaeus, 1758), and their cross-amplification in four other salmonid species. *Conservation Genetics* **2**, 219-223.
- Haddeland PJ, Junge C, Serbezov D, Vollestad LA (2015). Genetic parentage analysis confirms a polygynandrous breeding system in the European Grayling (*Thymallus thymallus*). *Plus One*, 1-12 (DOI:10.1371/journal.pone.0122032).
- Harbicht A, Wilson CC, Fraser DJ (2014) Does human-induced hybridization have long-term genetic effects? Empirical testing with domesticated, wild and hybridized fish populations. *Evolutionary Applications* **7**, 1180-1191.
- Holzer G., Hinterhofer M., Unfer G (2004). Gedanken und Vorschläge zu einer Reformierung der fischereilichen Bewirtschaftung österreichischer Salmonidengewässer. Österreichs Fischerei, Jahrgang 57/2004, pp. 232-248.
- Horká P, Horky P, Randák T, Turek J, Rylková K, Slavík O (2015) Radio-telemetry shows differences in the behavior of wild and hatchery-reared European grayling *Thymallus thymallus* in response to environmental variables. *Journal of Fish Biology* **86(2)**, 544-557.
- Kirchhofer A, Guthruf J (2002). Äschenpopulationen von nationaler Bedeutung. *Mitteilung zur Fischerei* **70**.
- Lelek, A. (1984). *The Freshwater Fishes of Europe*, Vol. **9**. Weisbaden: AULA-Verlag.
- Lercetau-Köhler E, Schliwen U, Kopun T, **Weiss S** (2013) Genetic variation in brown trout *Salmo trutta* across the Danube, Rhine, and Elbe headwaters: a failure of the phylogeographic paradigm? *BMC Evolutionary Biology* **13:176**
- Marić S, Razpet A, Nikolić V, Simonović P (2011). Genetic differentiation of European *T. thymallus* (*Thymallus thymallus*) populations in Serbia, based on mitochondrial and nuclear DNA analysis. *Genetics Selection Evolution* **43**, 2.

- Meraner A, Gandolfi A (2012) Phylogeography of European grayling, *Thymallus thymallus* (Actinopterygii, Salmonidae), within the Northern Adriatic basin: evidence for native and exotic mitochondrial DNA lineages. *Hydrobiologia* **693**, 205-221.
- Meraner A, Unfer G, Gandolfi A (2013) Good news for conservation: limited genetic signatures of inter-basin fish transfer in *Thymallus thymallus* (Salmonidae) from the Upper Drava River. *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* **409**, 1–17.
- Meraner A, Cornettie L, Gandolfi A (2014) Defining conservation units in a stocking-induced genetic melting pot: unraveling native and multiple exotic genetic imprints of recent and historical secondary contact in Adriatic grayling. *Ecology and Evolution* **4(8)**, 1313-1327.
- Miller MP (2005). Alleles in Space (AIS): Computer Software for the Joint Analysis of Interindividual Spatial and Genetic Information. *Journal of Heredity* **96(6)**, 722-724.
- Näslund, I. (1998). Survival and dispersal of hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta*, released in small streams. In *Stocking and Introduction of Fish* (Cowx, I. G., ed.), pp. 59–76. Oxford: Fishing News Books, Blackwell Science.
- Persat H (1996). Threatened populations and conservation of the European *T. thymallus*, *Thymallus thymallus* (L. 1758). In *Conservation of Endangered Fishes of Europe* (Kirchhofer, A. & Hefti, D., eds), pp. 233–247. Basel: Birkh"ausser Verlag.
- Piry S, Luikart G, Cornuet JM (1999). BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity* **90**, 502-503.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000). Inference of population structure using multi-locus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Reich DE, Goldstein DB (1998). Genetic evidence for a Paleolithic human population expansion in Africa (vol 95, pg 8119, 1998). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **95(18)**, 11026-11026.
- Rousset F (2008). Genepop'007: a complete reimplentation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* **8**, 103-106.
- Sušnik S, Snoj A, Dovc P (1999a). Microsatellites in grayling (*Thymallus thymallus*): comparison of two geographically remote populations from the Danubian and Adriatic river basin in Slovenia. *Molecular Ecology* **8**, 1753-1768.
- Sušnik S, Snoj A, Dovc,P (1999b). A new set of microsatellite markers for grayling: BFRO014, BFRO015, BFRO016, BFRO017 and BFRO018. *Animal Genetics* **30(6)**, 478.

- Sušnik S, Snoj A, Jesensek D, Dovč P (2000). Rapid communication: microsatellite DNA markers (BFRO010 and BFRO011) for grayling. *Journal of Animal Science*, **78**: 488-489.
- Swatdipong A, Primmer CR, Vasemägi A (2010). Historical and recent bottlenecks in European grayling, *Thymallus thymallus* **11**, 279-292.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, FilipSKI A, and Kumar S (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. [*Molecular Biology and Evolution* **30**, 2725-2729.](#)
- Turek, J., Randák, T, Horký, P., Zlábek, V., Velíšek, J., Slavík, O. & Hanák, R. (2010). Postrelease growth and dispersal of pond and hatchery-reared European grayling *Thymallus thymallus* compared with their wild conspecifics in a small stream. *Journal of Fish Biology* **76**, 684–693.
- Templeton AR, Crandall KA, Sing CR (1992). A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**, 619-623.
- Turek J, Randák T, Horký P, Zlábek V, Velíšek J, Slavík O, Hanák R (2010). Post-release growth and dispersal of pond and hatchery-reared European grayling *Thymallus thymallus* compared with their wild conspecifics in a small stream. *Journal of Fish Biology* **76**, 684–693.
- Vähä JP, Erkinaro J, Niemelä E, Primmer CR (2007). Life–history and habitat features influence the within–river genetic structure of Atlantic salmon. *Molecular Ecology* **16**, 2638–2654.
- Weiss S, Schmutz S (1999) Performance of hatchery-reared brown trout and their effects on wild fish in two small Austrian streams. *Transactions of the American Fisheries Society* **128**, 302-316.
- Weiss S, Kopun T, Sušnik Bajec S (2013). Assessing natural and disturbed population structure in European grayling, *Thymallus thymallus* (Salmonidae): melding phylogeographic, population genetic, and jurisdictional perspectives for conservation planning *Journal of Fish Biology* **82**, 505-521.
- Weiss S, Persat H, Eppe R, Schlotterer C, Ublein F (2002). Complex patterns of colonization and refugia revealed for European grayling *Thymallus thymallus*, based on complete sequencing of the mtDNA control region. *Molecular Ecology* **11**, 1393-1407.
- Weiss S, Ublein F, Jagsch A (2001). Conservation of salmonid fishes in Austria: current status and future strategies. Pages 72-78 *In* MJ Collares-Pereira, MM Coelho & IG Cowx (Editors). *Freshwater Fish Conservation: options for the future*. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford.
- Weiss S, Mattersdorfer K (2012). Genetische Charakterisierung von ca. 240 Äschen (*Thymallus thymallus*) aus der Lafnitz und Feistritz im Rahmen des Projektes "Schutz bzw. Wiederherstellung eines sich selbst erhaltenden Äschenbestandes in der Lafnitz". Endbericht, Im Auftrag

der DWS Hydro-Ökologie GmbH Technisches Büro für Gewässerökologie und Landschaftsplanung, Wien. 28 pp.

Winkler K, Paminger-Lahnsteiner B, Wanzenboeck J, Weiss S (2011). Hybridization and restricted gene flow between native and introduced stocks of Alpine whitefish (*Coregonus* sp.) across multiple environments *Molecular Ecology* **20**, 456-472.

Schenekar T, Lercetau-Köhler E, Weiss S (2014). Fine-scale phylogeographic contact zone in Austrian brown trout *Salmo trutta* reveals multiple waves of post-glacial colonization and a predominance of natural versus anthropogenic admixture. *Conservation Genetics* **15(3)**, 561-572.

Uiblein F, Jagsch A, Honsig-Ehrlenburg W, Weiss S (2001). Status, habitat use, and vulnerability of European grayling *Thymallus thymallus* in Austrian rivers. *Journal of Fish Biology* **59**

6. ANHÄNGE

6.1 Beschreibung

N – Anzahl der Individuen

N_A – mittlere Anzahl der Allele pro Population

H_O – beobachtete Heterozygotie

H_E – erwartete Heterozygotie

F_{IS} - Signifikante FIS Werte sind fettgedruckt und mit Rot markiert

*P < 0.001 größerer F_{IS} Wert als beobachtet

**P < 0.001 kleinerer FIS Wert als beobachtet

Bottleneck Tests:

k-Test - „within-locus“, am besten für die Detektion rezenterer Bottleneckereignisse, signifikante Werte sind fettgedruckt und mit Grün markiert

*P < 0.05

**P < 0.001

g-Test - „inter-locus“ optimal für die Reflektion älterer Bottleneck Ereignisse

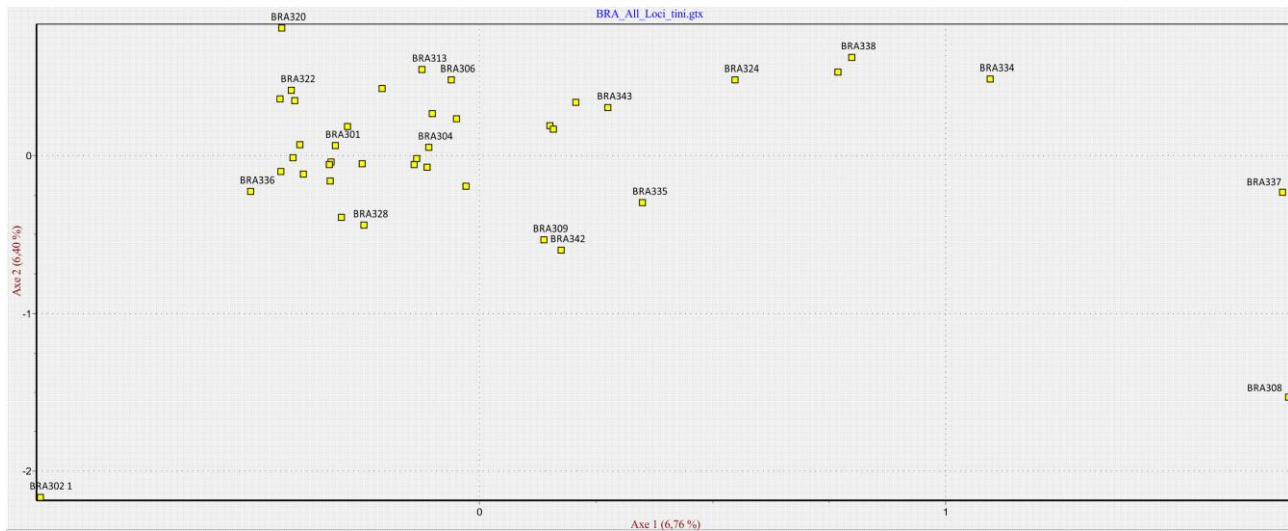
Für die Evaluierung der Signifikanz für den g Test wurden in Abhängigkeit der Probengröße (Reich et al. 1999) *Cut-off* Werte zwischen 0,17 und 0,23 verwendet. Keine Werte waren Signifikant.

p-Wert (Wilcoxon Test) - „Heterozygote Excess Test“ unter dem zwei-Phasen-Modell

Vollgeschwisteranalyse:

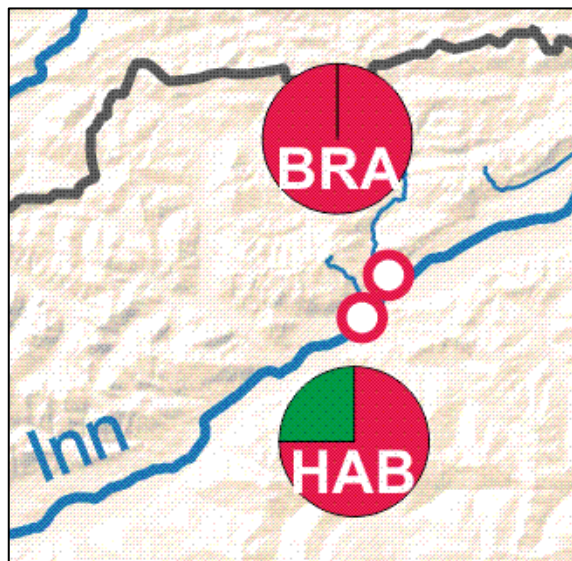
Gezeigt sind der Populationscode, der Populationsname, Anzahl der Proben (N), Zahl der identifizierten Vollgeschwisterfamilien und die Zahl der Vollgeschwister in jeder dieser Familien. Die roten Zahlen repräsentieren identische Genotypen die im Rahmen dieser Analyse bestimmt wurden.

1) BRA-Brandenberger Ache (Inn)

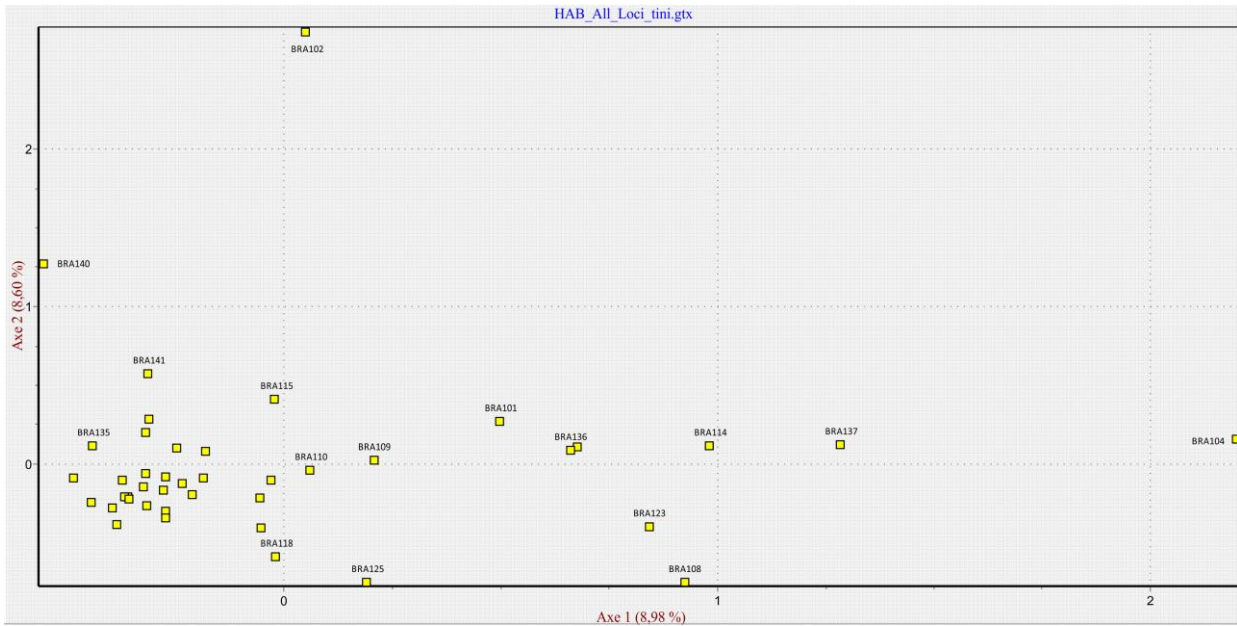


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

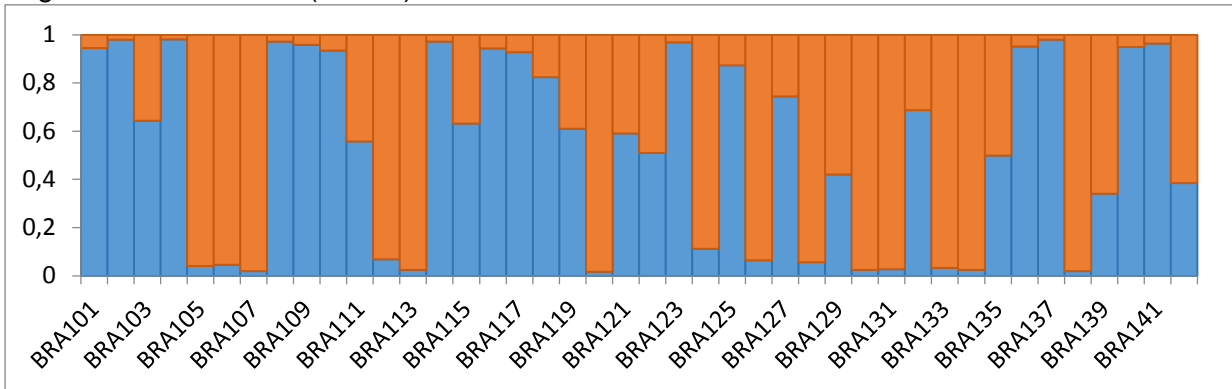
Brandenberger Ache	
N	41
N_A	10.1
H_O	0.705895
H_E	0.694516
F_{IS}	-0.017
k -Test	0.1484
g -Test	0.5587
p -Wert (Wilcoxon Test)	0.99854
N Families	2
N Siblings	2/2



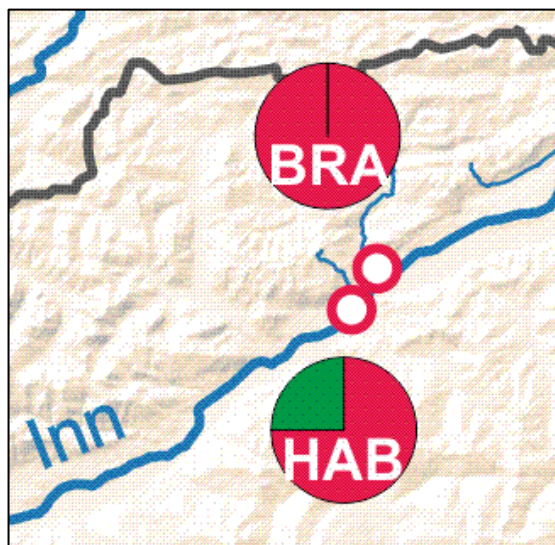
2) **HAB**- Habachbach (Inn)



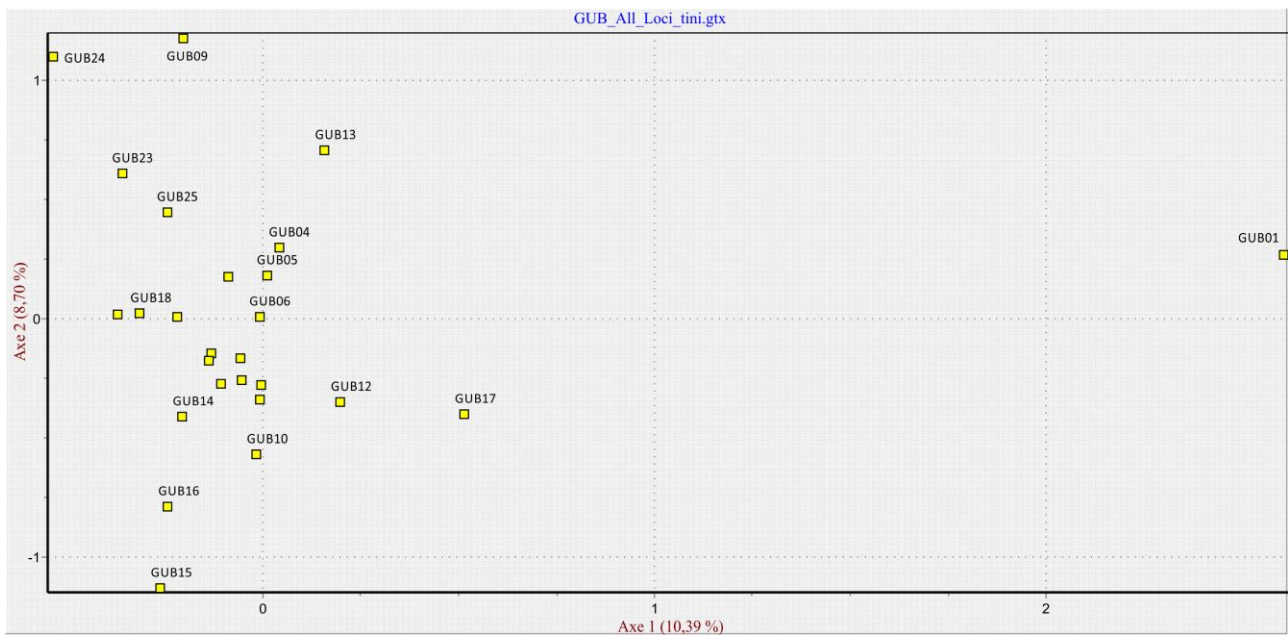
Highest DeltaK at K=2 (10Loci)



Habachbach	
N	42
N_A	8.3
H_o	0.774158
H_E	0.707825
F_{is}	-0.095**
k-Test	0.3406
g-Test	1.3041
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99316
N Families	6
N Siblings	4/10/2/3/3/2

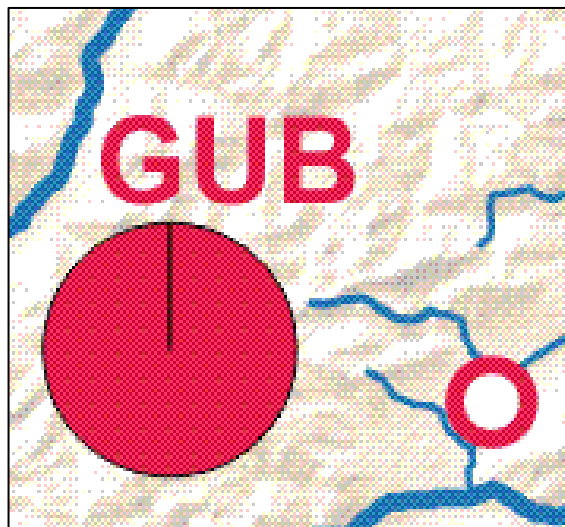


3) GUB - Gurglbach (Inn)

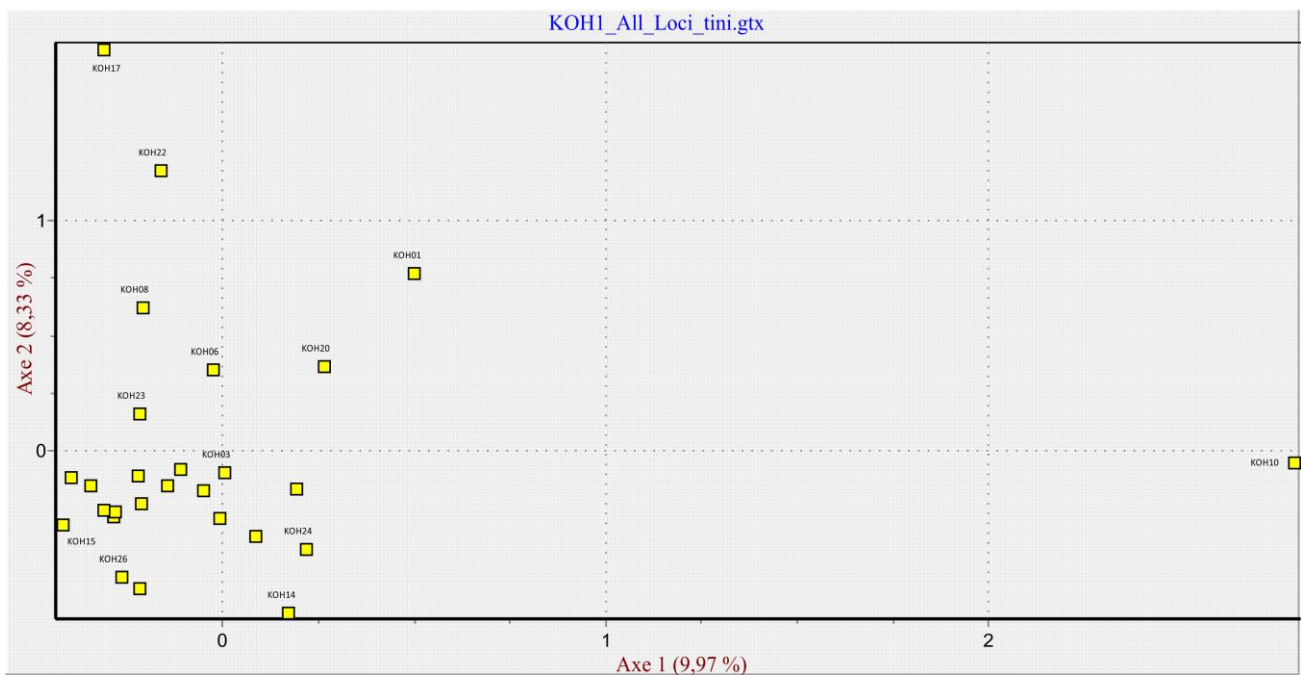


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Gurglbach	
<i>N</i>	26
<i>N_A</i>	7.5
<i>H_O</i>	0.656
<i>H_E</i>	0.656
<i>F_{IS}</i>	0
<i>k-Test</i>	0.0449*
<i>g-Test</i>	0.9182
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.99951
<i>N Families</i>	1
<i>N Siblings</i>	2



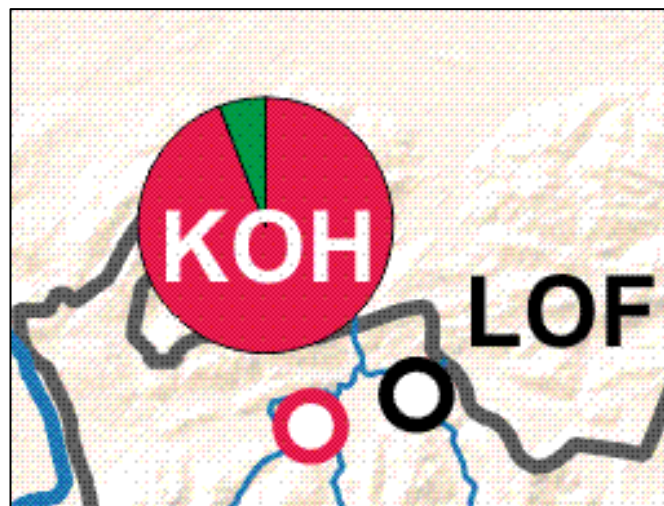
4) KOH1- Kohlenbach Großache (Inn) - 2004



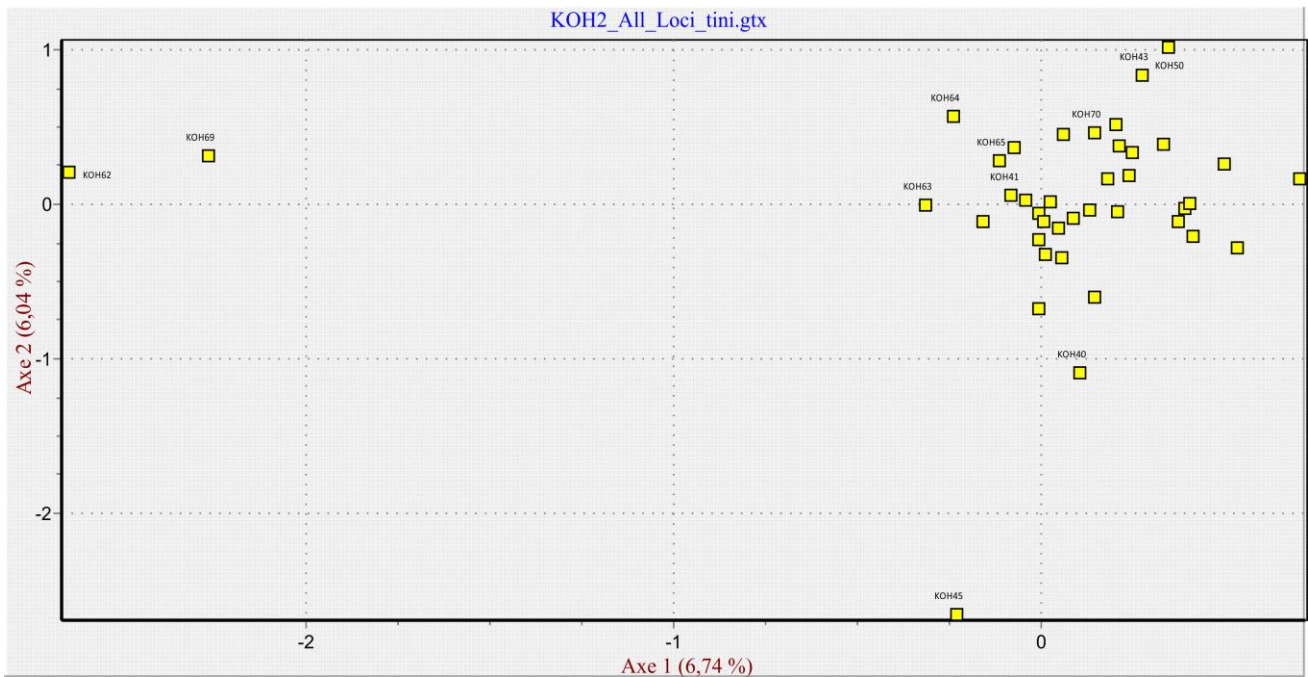
KOH1 hat kein CR daten

Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Kohlenbach 1 (2004)	
N	29
N_A	8
H_O	0.710088
H_E	0.724191
F_{IS}	0.02
k-Test	0.1484
g-Test	0.9383
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.91992
N Families	2
N Siblings	2/2

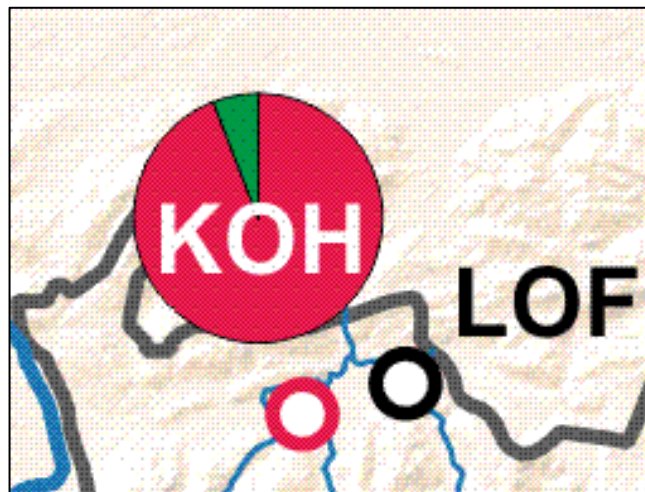


5) KOH2- Kohlenbach (Inn)

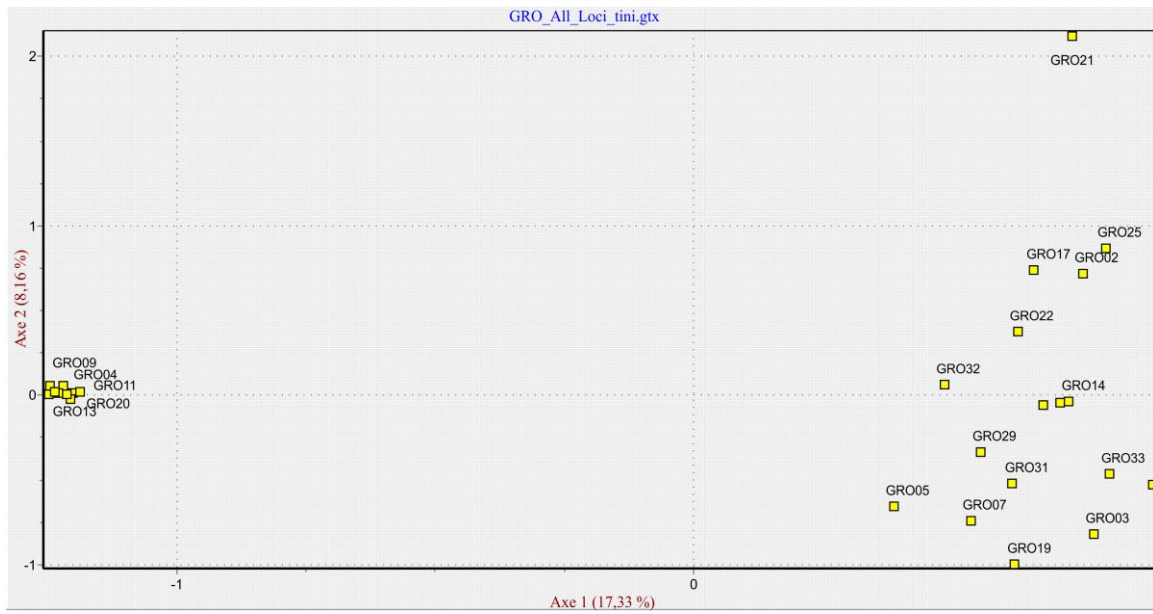


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

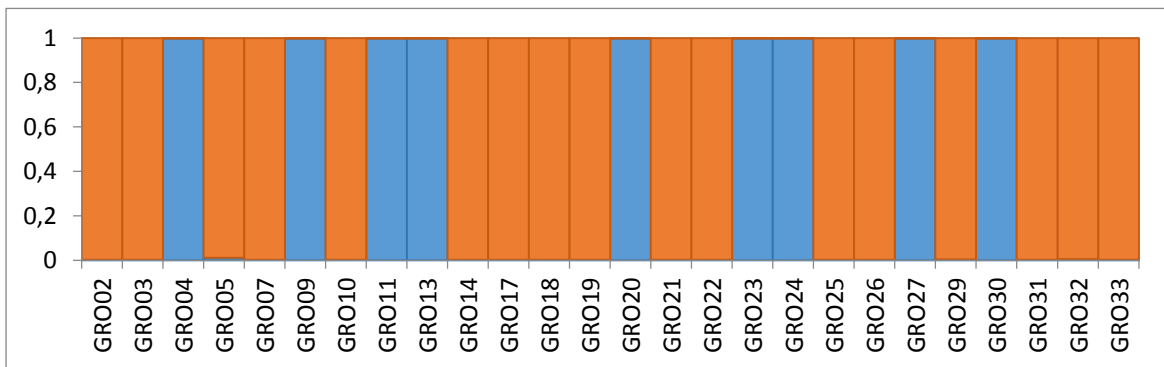
Kohlenbach 2 (2013)	
N	40
N_A	11.5
H_O	0.723303
H_E	0.765141
F_{IS}	0.055
k-Test	0.0449*
g-Test	0.8182
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99072
N Families	1
N Siblings	2



6) **GRO** - Großsache (Inn)

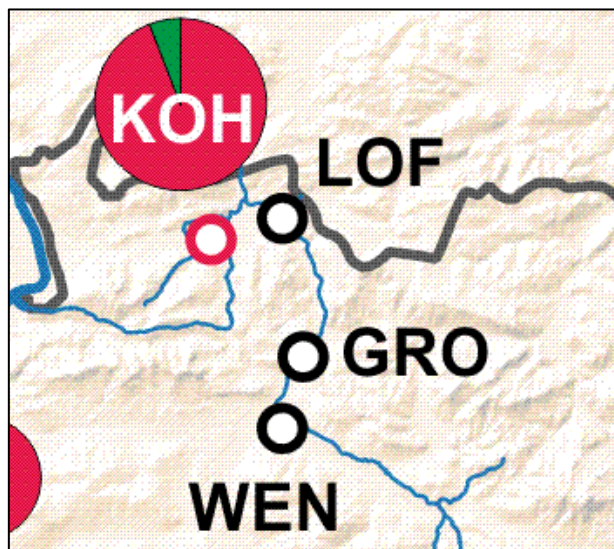


Highest DeltaK at K=2

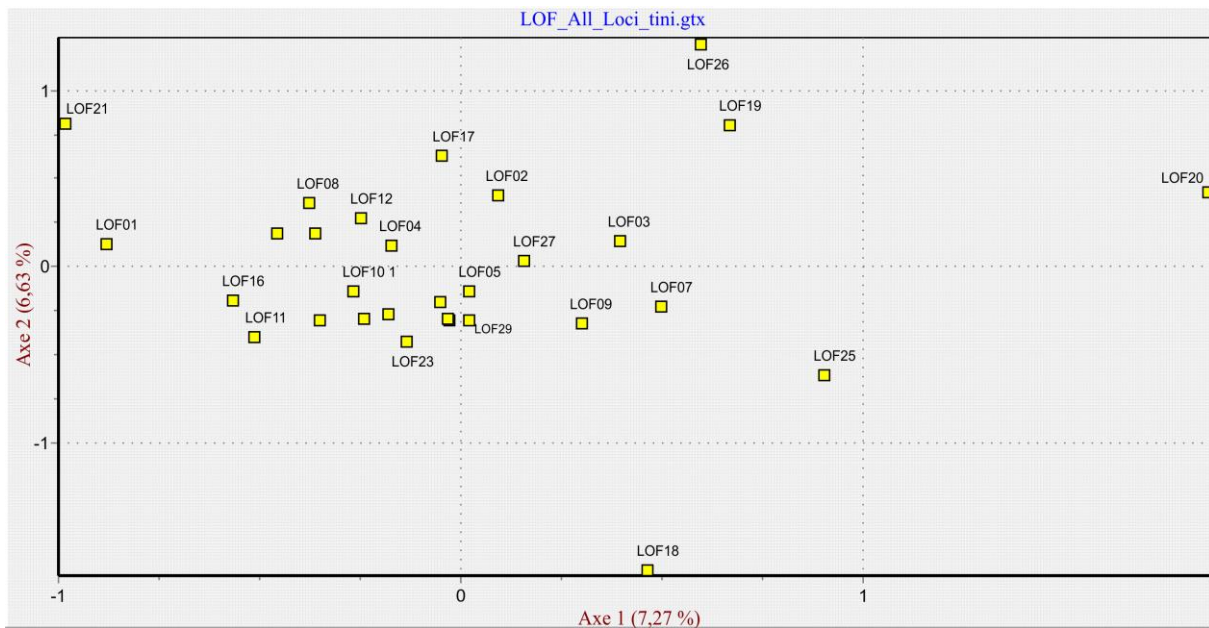


GRO hat kein CR Daten

Großsache	
N	26
N_A	10.1
H_o	0.666
H_E	0.782
F_{IS}	0.151*
k-Test	0.3406
g-Test	1.1435
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.83887
N Families	1
N Siblings	9



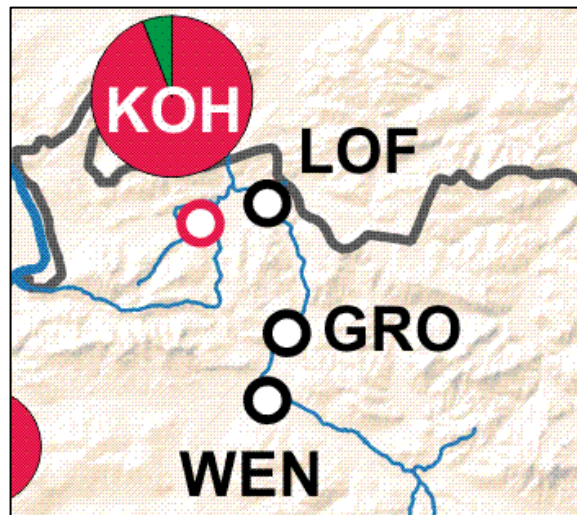
7) **LOF** - Großsache, Lofer (Inn)



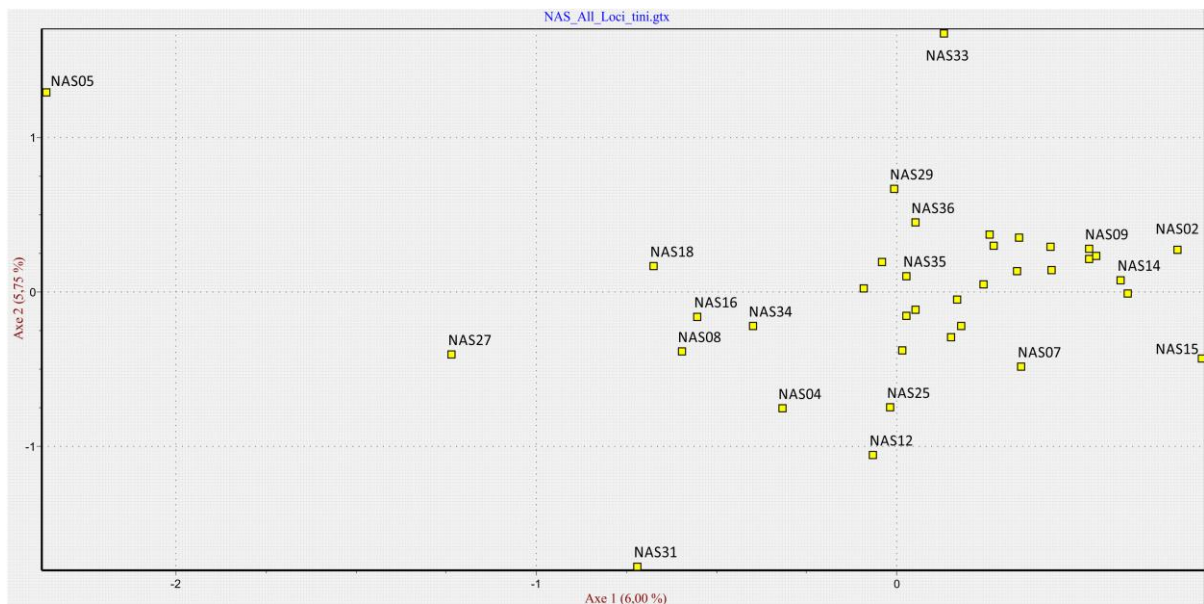
LOF hat kein CR Daten

Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Großsache Lofer	
<i>N</i>	30
<i>N_A</i>	9.4
<i>H_o</i>	0.71
<i>H_E</i>	0.745
<i>F_{is}</i>	0.048
<i>k-Test</i>	0.0449*
<i>g-Test</i>	0.8487
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.99072
<i>N Families</i>	-
<i>N Siblings</i>	-

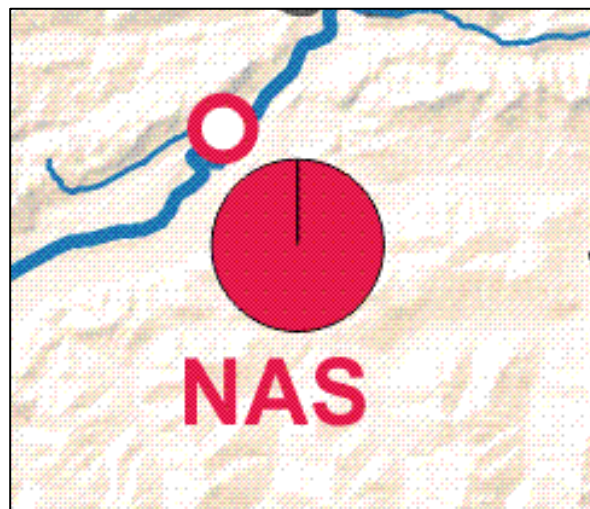


8) NAS - Nasenbach (Inn)

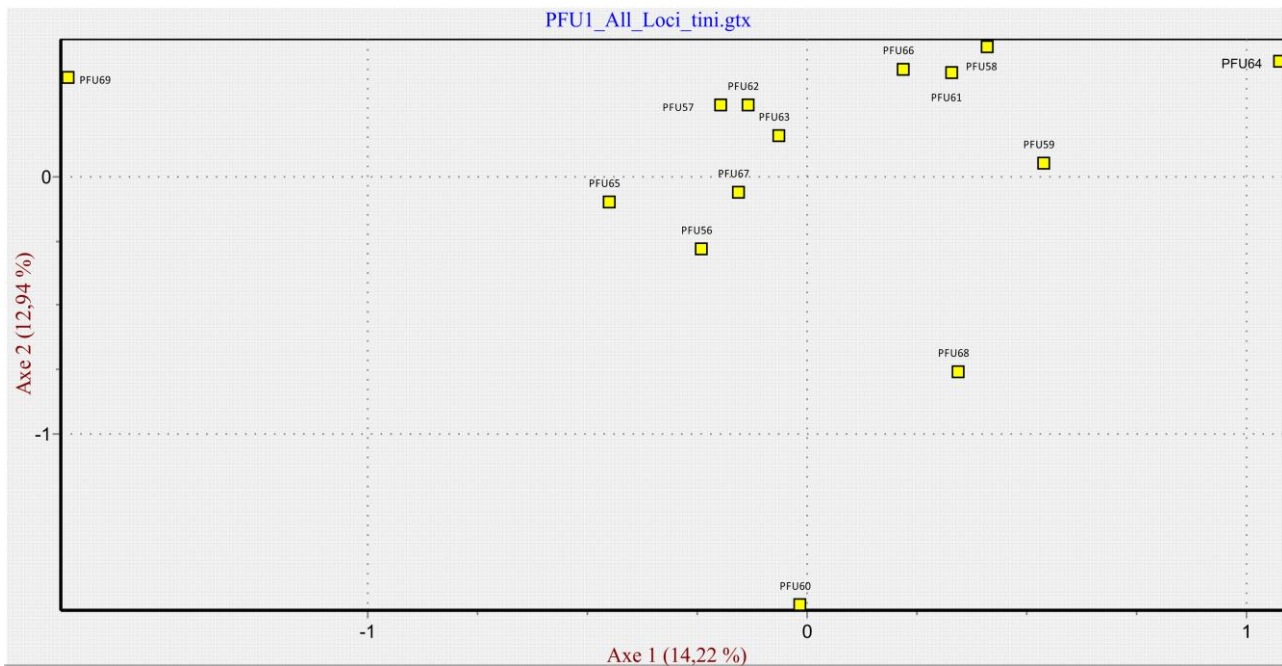


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Nasenbach	
N	37
N_A	11.4
H_O	0.671
H_E	0.703
F_{IS}	0.046
k-Test	0.0084**
g-Test	0.834
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99854
N Families	-
N Siblings	-

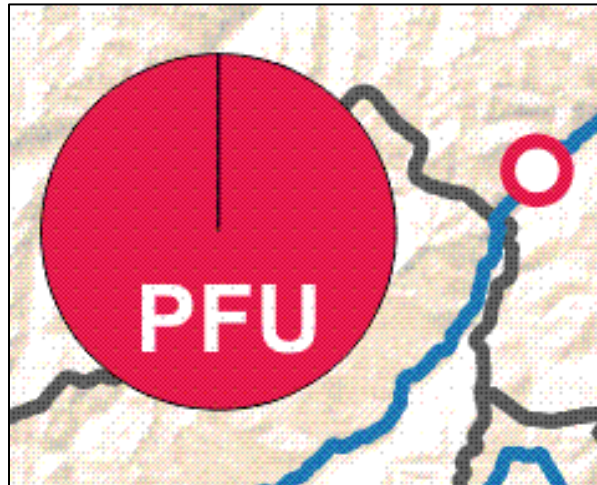


9) PFU1- Pfunds (Inn) 2012

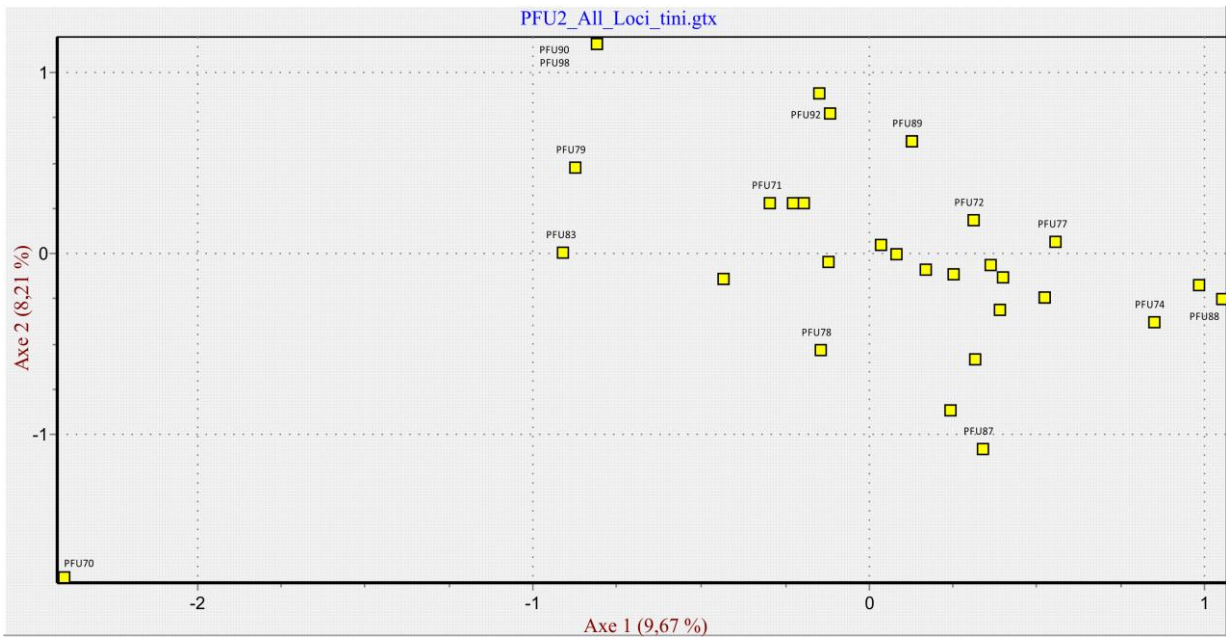


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

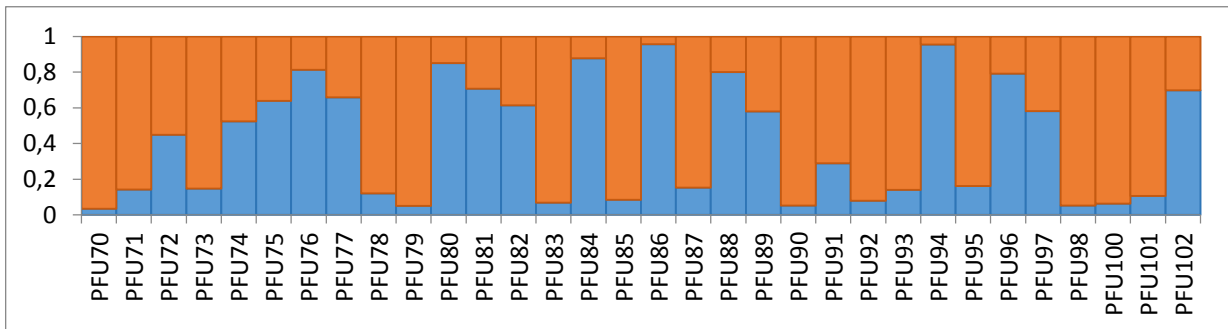
Pfunds 1 (2012)	
N	14
N_A	6.1
H_O	0.635318
H_E	0.618771
F_{IS}	-0.028
k-Test	0.1484
g-Test	1.1789
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.93457
N Families	-
N Siblings	-



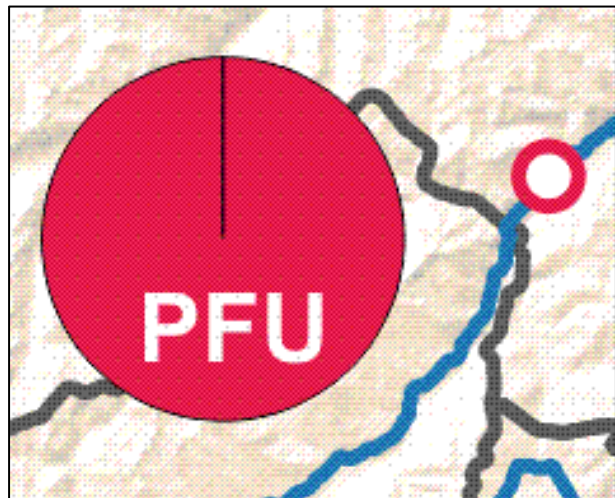
10) PFU2- Pfunds (Inn) 2013



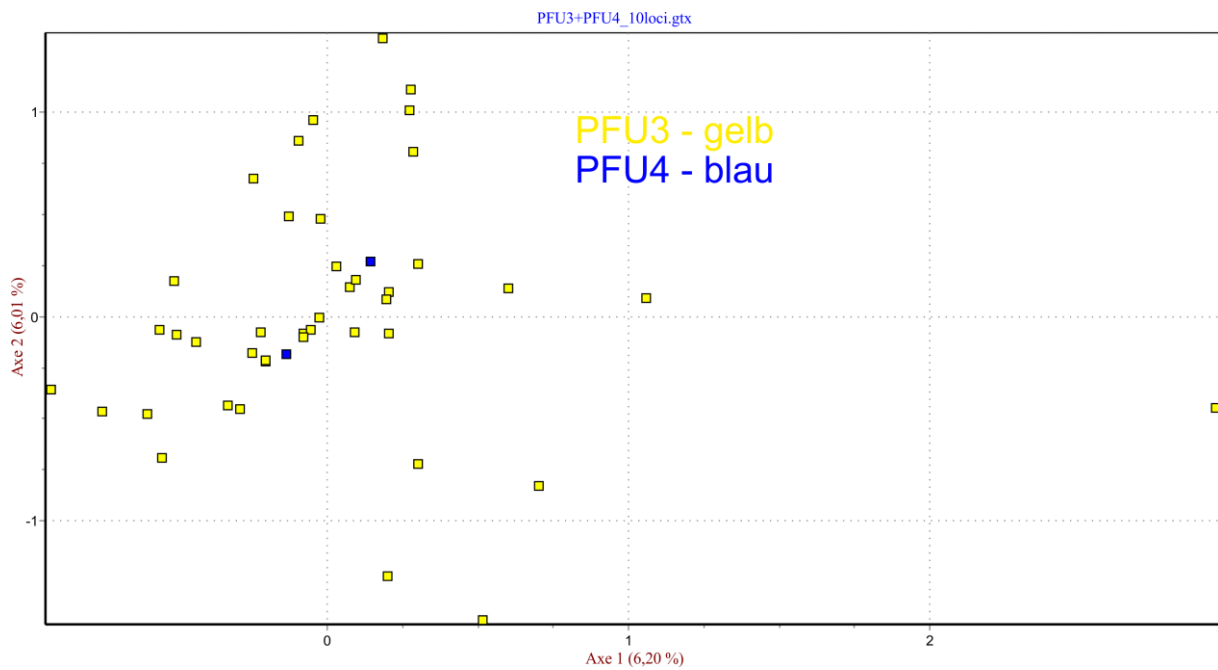
Highest DeltaK at K=2



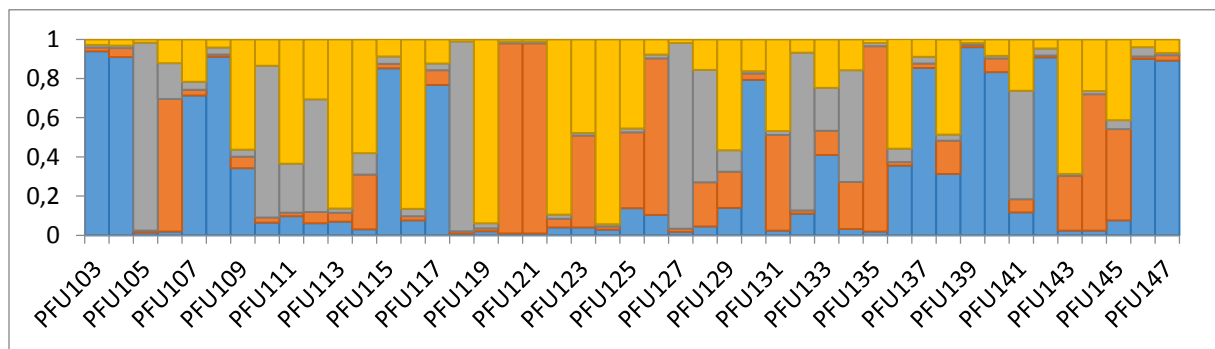
Pfunds 2 (2013)	
N	29
N_A	9.8
H_o	0.67
H_E	0.677
F_{is}	0.001
k-Test	0.0449*
g-Test	0.7616
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99512
N Families	7
N Siblings	2/2/2/2/2/2



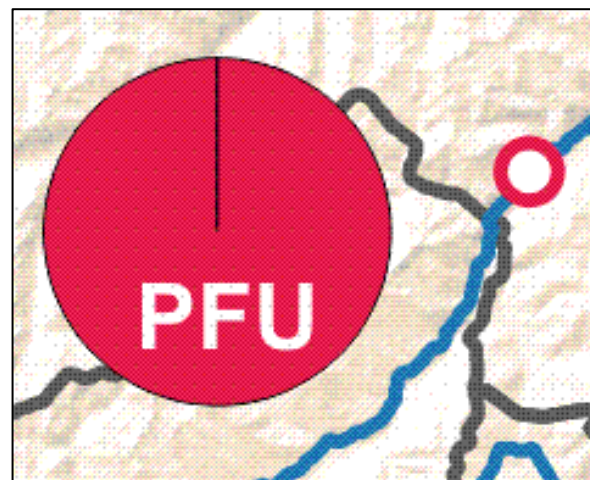
11) PFU3 neu - Pfunds 2014



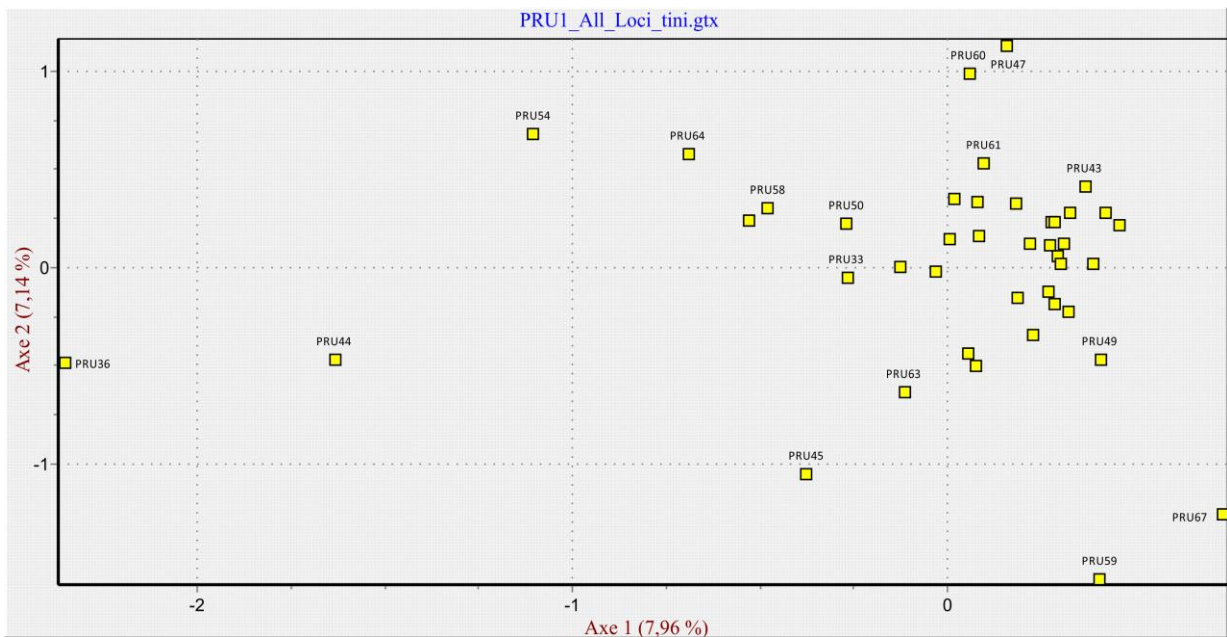
Highest DeltaK at K=4



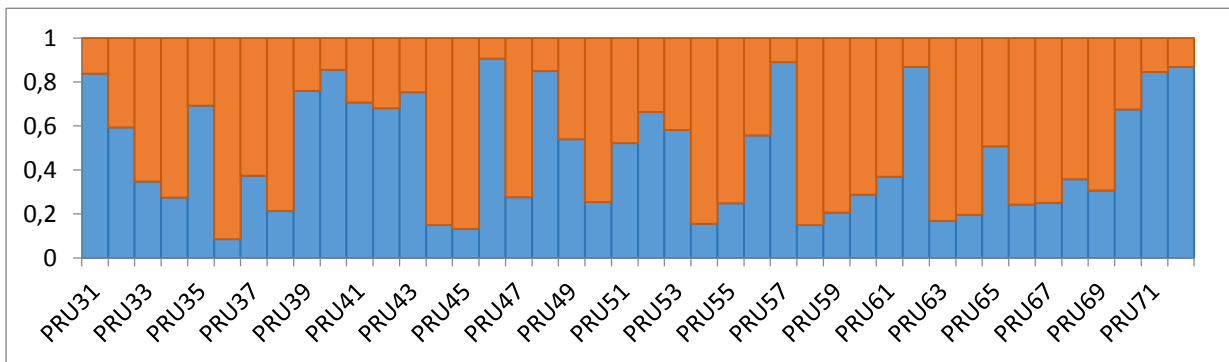
Pfunds 3 (2014)	
N	44
N_A	11.5
H_o	0.666
H_E	0.703
F_{IS}	0.054
k-Test	0.0449*
g-Test	1.2463
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99512
N Families	3
N Siblings	3/2/2



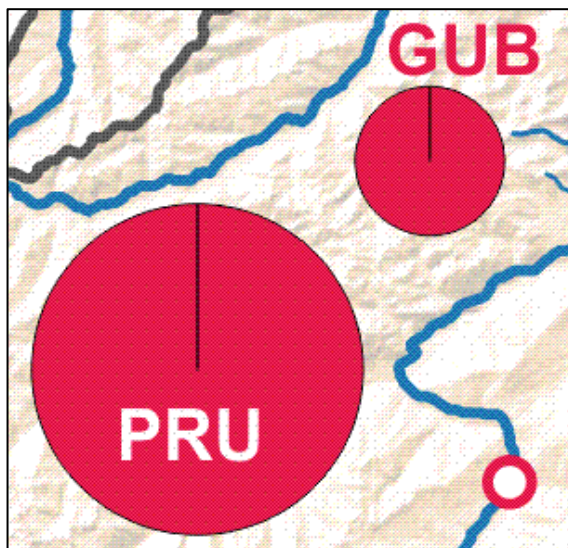
12) PRU1 - Prutz (Inn) 2010



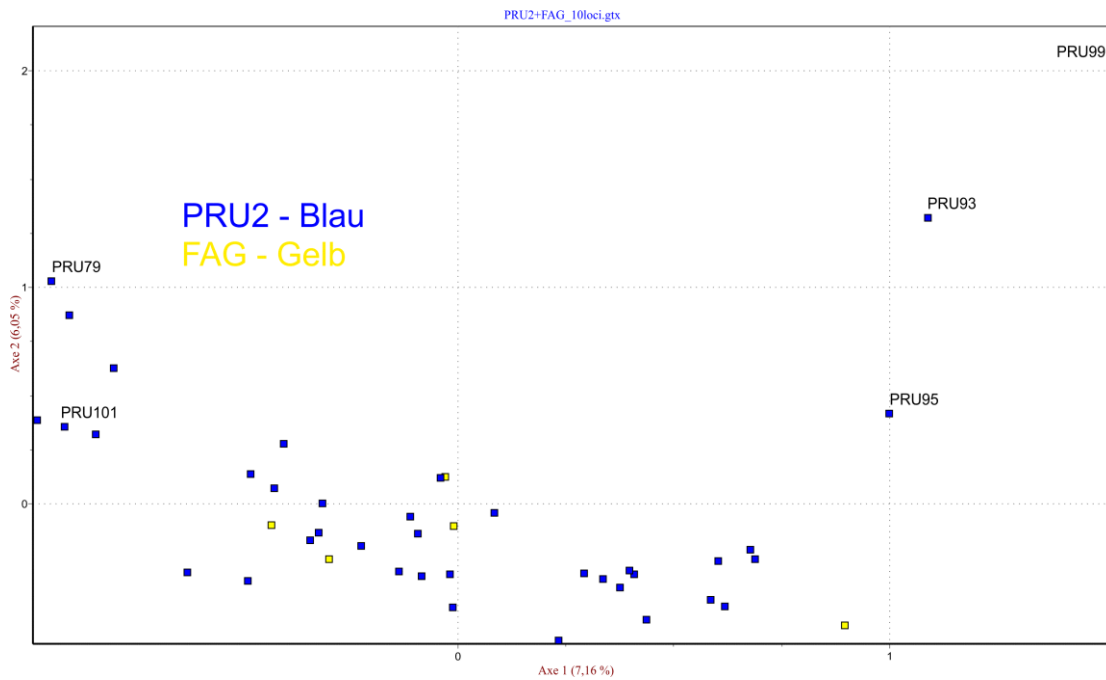
Highest DeltaK at K=2



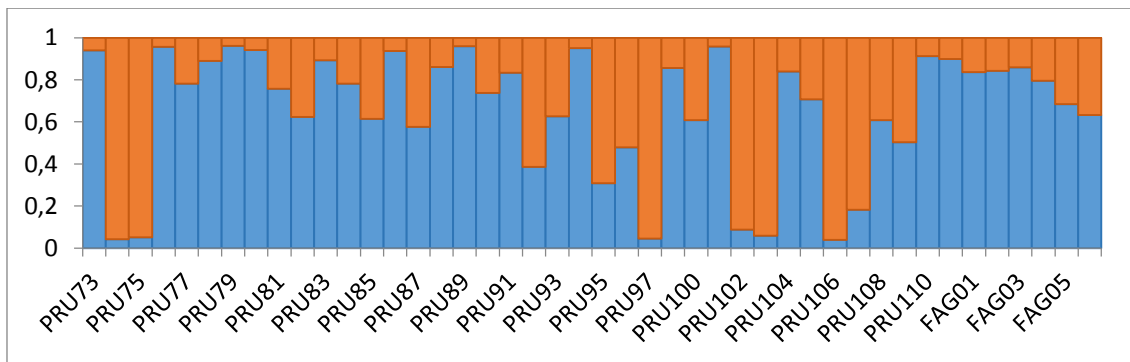
Prutz 1 (2010)	
N	42
N_A	7.8
H_o	0.564747
H_E	0.611906
F_{is}	0.078
k-Test	0.0449*
g-Test	0.6914
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99854
N Families	4
N Siblings	2/2/2/2



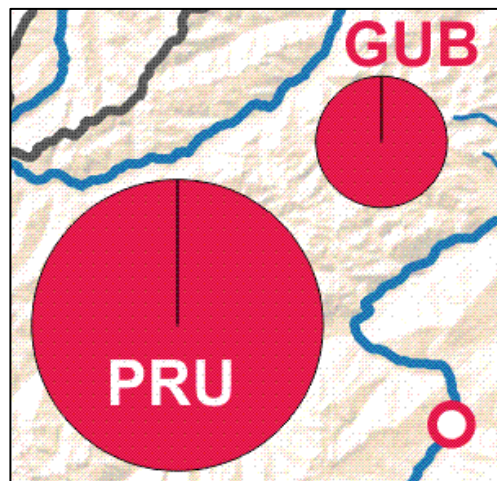
13) PRU2 - Prutz (Inn) + FAG 2013



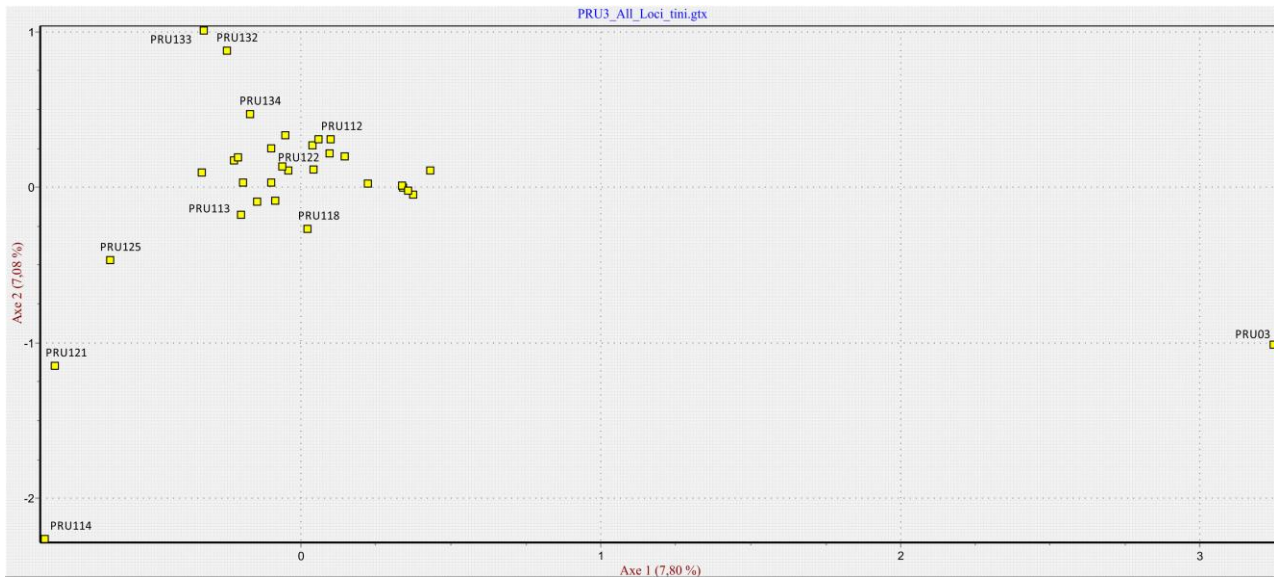
Highest DeltaK at K=2



Prutz 2 (2013)	
N	44
N_A	10.4
H_o	0.632
H_E	0.66
F_{is}	0.044
k-Test	0.0449*
g-Test	1.0035
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99854
N Families	4
N Siblings	2/2/3/2

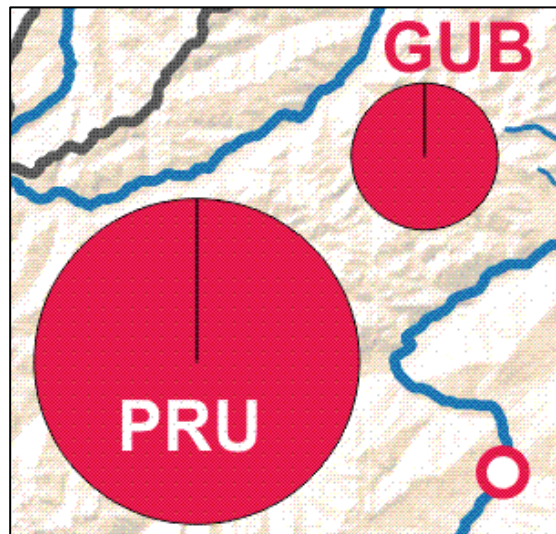


14) PRU3 - Prutz, Flagge (Inn) 2014

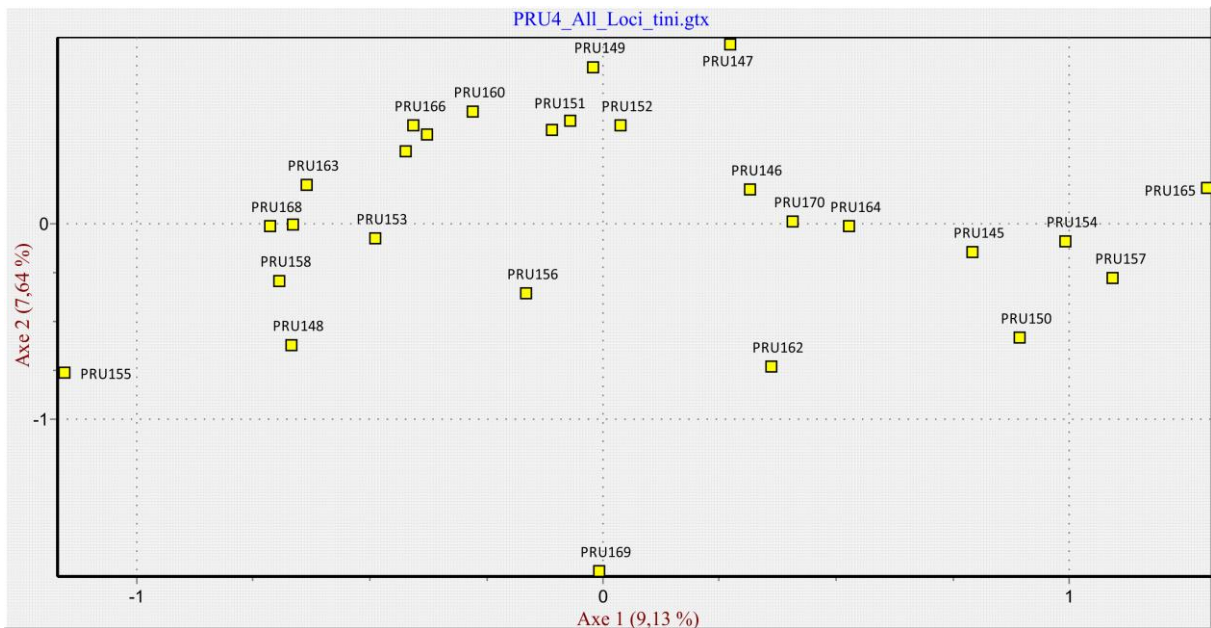


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

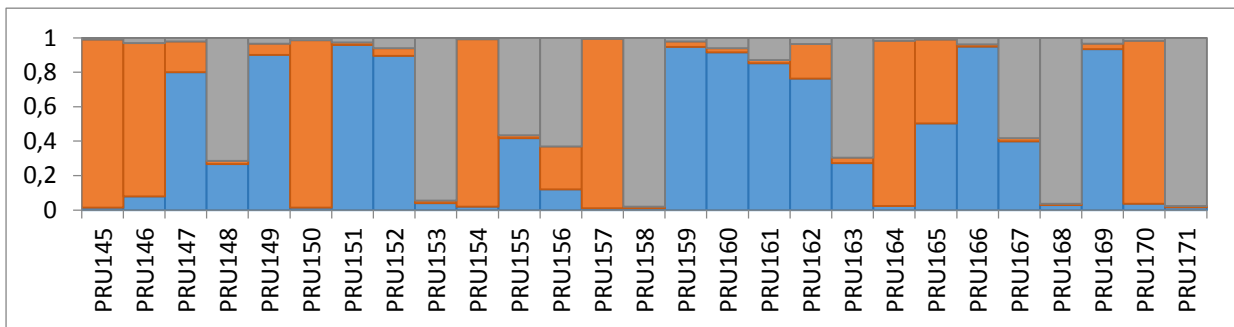
Prutz 3 (2014)	
N	31
N_A	9.3
H_O	0.635
H_E	0.683
F_{IS}	0.071
k-Test	0.1484
g-Test	0.6678
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.98389
N Families	2
N Siblings	2/2



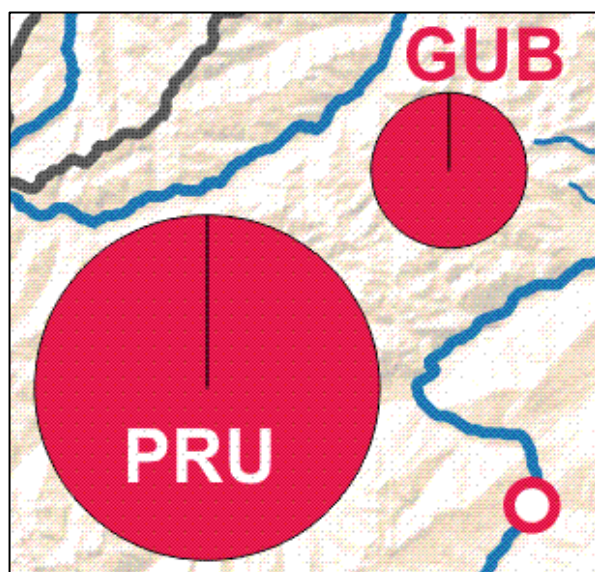
15) PRU4 - Prutz (Inn) 2014



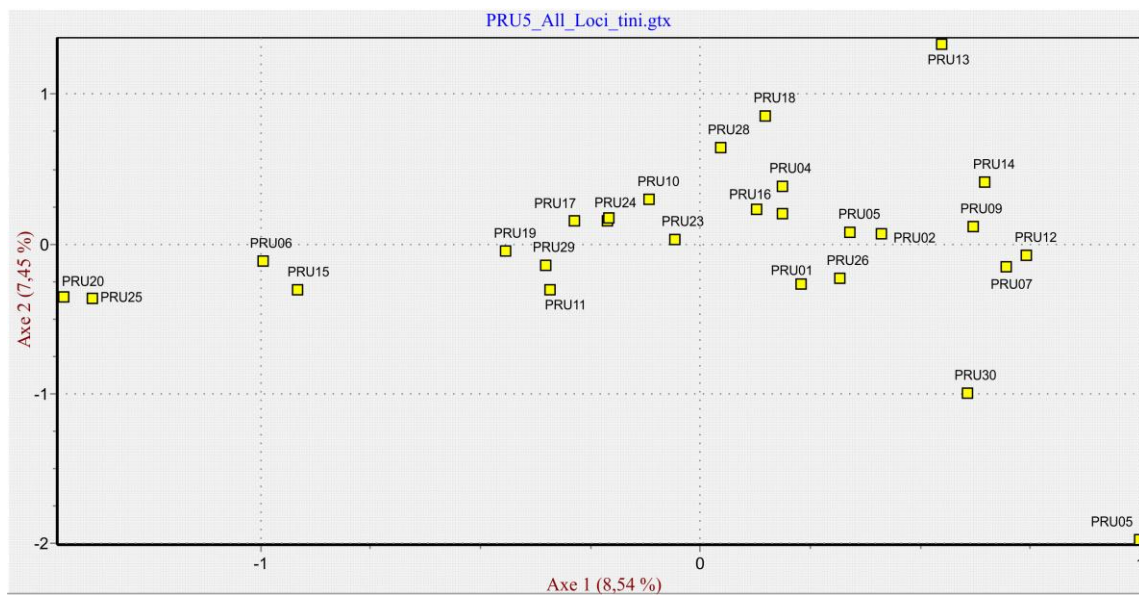
Highest DeltaK at K=3



Prutz 4 (2014)	
N	27
N_A	9
H₀	0.677
H_E	0.712
F_{IS}	0.05
k-Test	0.1484
g-Test	1.4033
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.93457
N Families	5
N Siblings	2/3/2/2/2

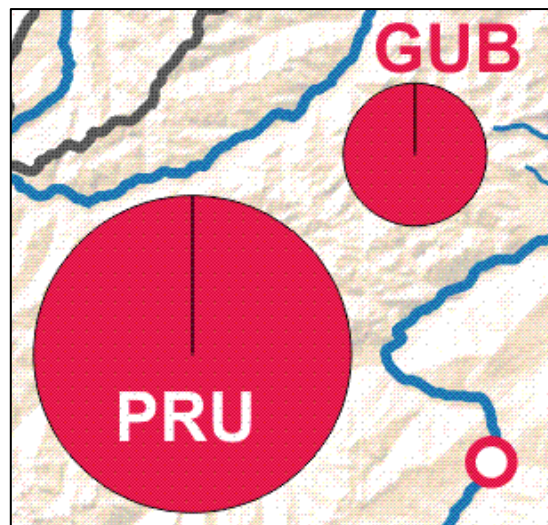


16) PRU5 - Prutz (Inn) 2004

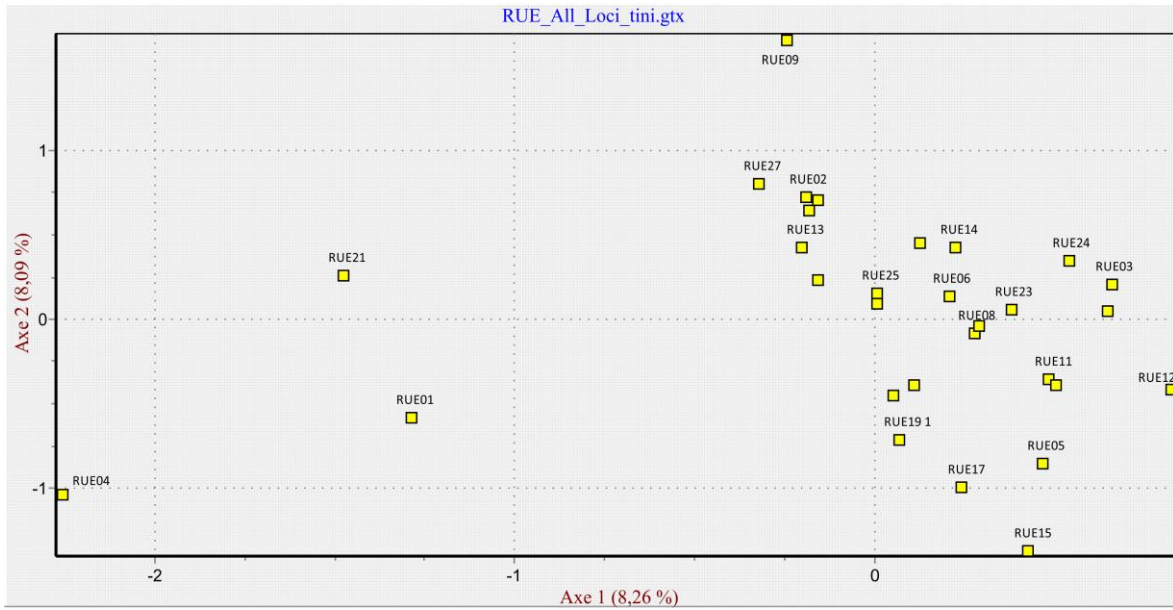


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

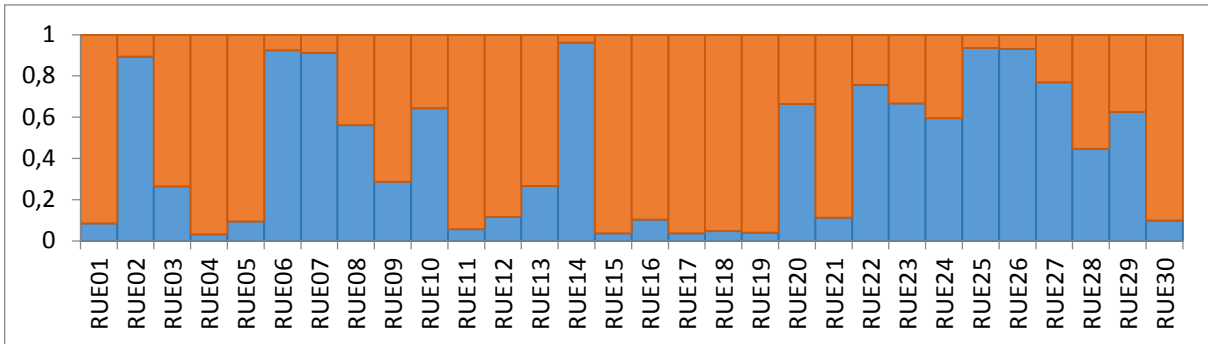
Prutz 5 (2004)	
<i>N</i>	28
<i>N_A</i>	9.3
<i>H_O</i>	0.682
<i>H_E</i>	0.683
<i>F_{IS}</i>	0.002
<i>k</i>-Test	0.0449*
<i>g</i> -Test	0.7467
<i>p</i> -Wert (Wilcoxon Test)	0.99756
<i>N</i> Families	3
<i>N</i> Siblings	2/2/2



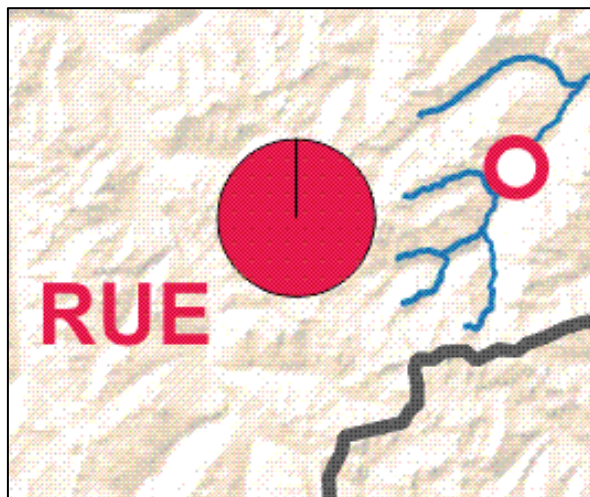
17) RUE - Ruetz (Inn)



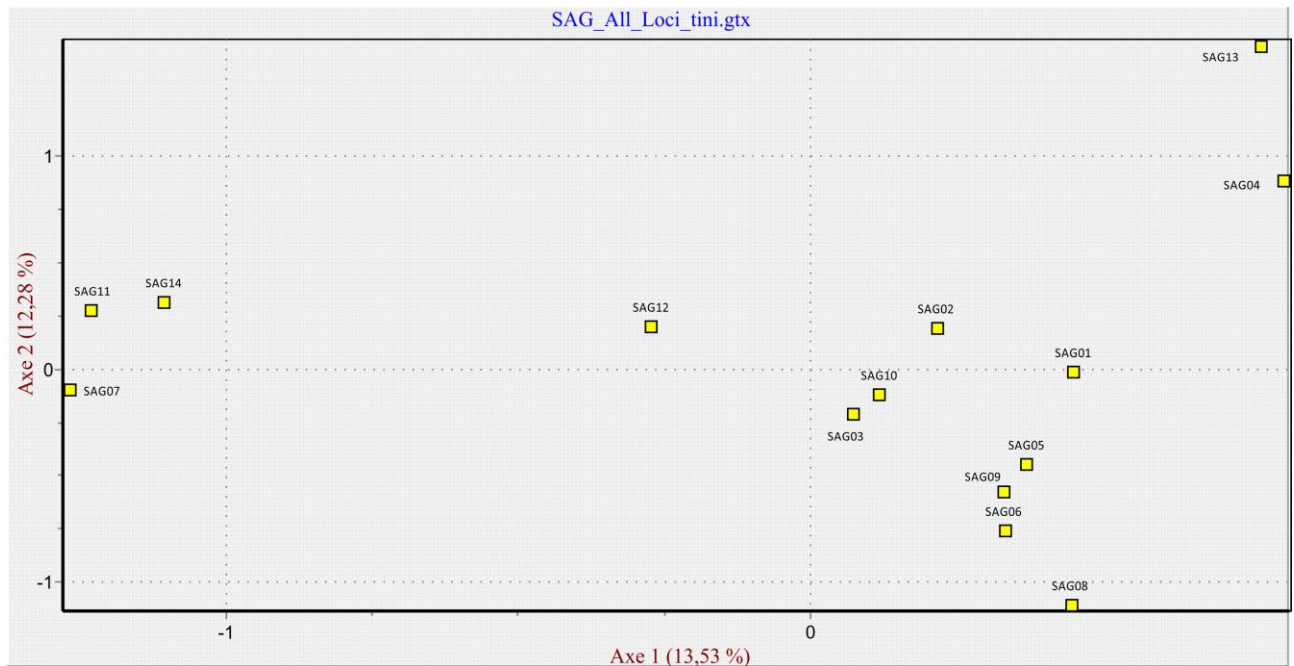
Highest DeltaK at K=2



Ruetz	
N	30
N_A	10.3
H_O	0.707
H_E	0.718
F_{IS}	0.015
k-Test	0.0449*
g-Test	1.2745
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.98389
N Families	-
N Siblings	-



18) **SAG1** - Saglbach (Inn) 2012

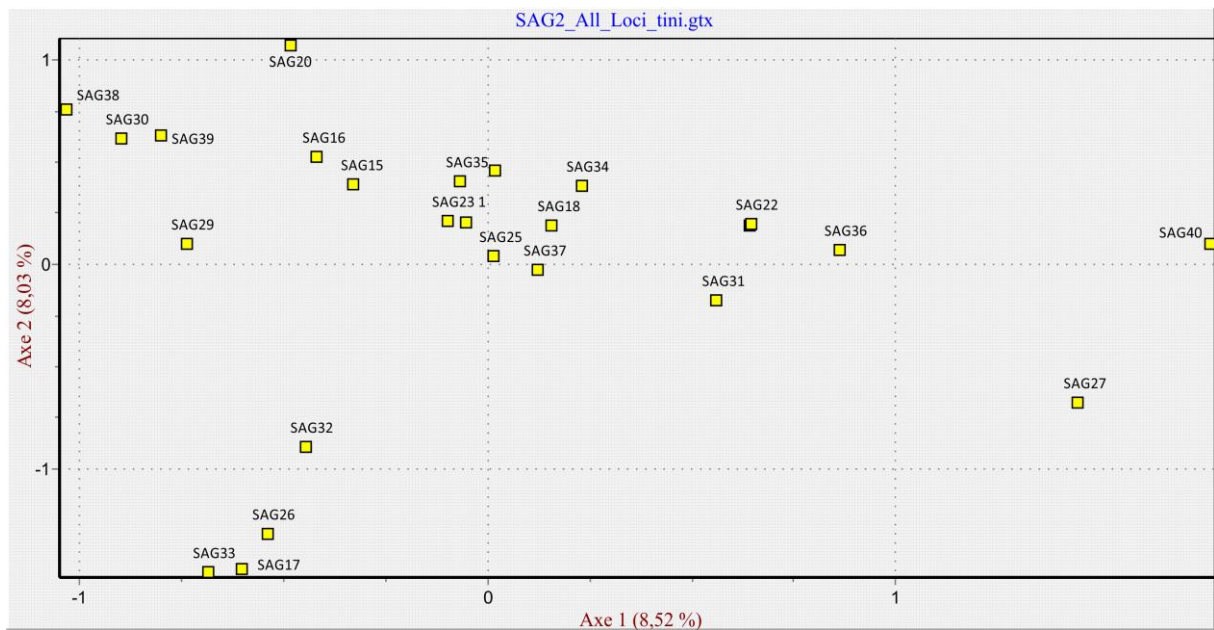


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Saglbach 1 (2012)	
N	14
N_A	6.8
H_o	0.603379
H_E	0.67899
F_{IS}	0.117
k-Test	0.1484
g-Test	1.3186
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99316
N Families	-
N Siblings	-



19) **SAG2** - Saglbach (Inn)

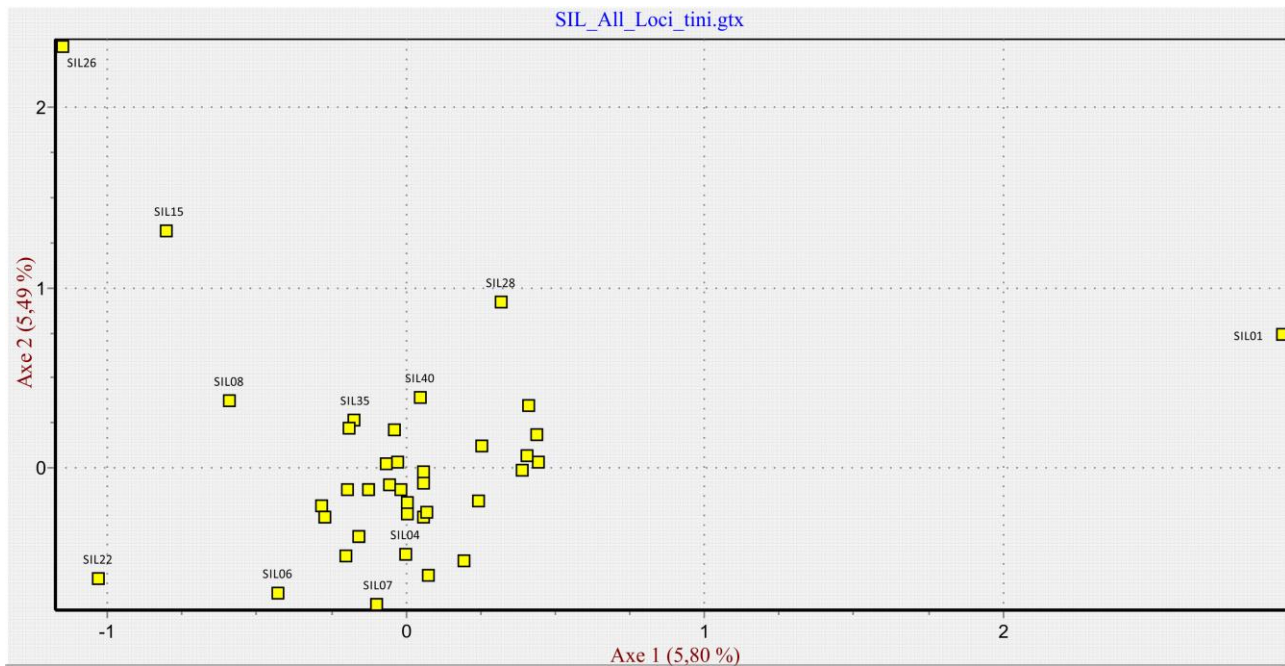


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Saglbach 2 (2014)	
<i>N</i>	24
<i>N_A</i>	11
<i>H_O</i>	0.676
<i>H_E</i>	0.732
<i>F_{IS}</i>	0.079
<i>k-Test</i>	0.0449*
<i>g-Test</i>	0.9383
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.99854
<i>N Families</i>	2
<i>N Siblings</i>	2/2

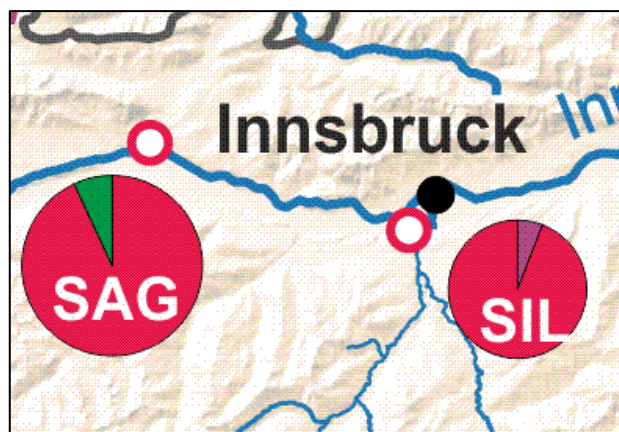


20) **SIL** - Sill (Inn)



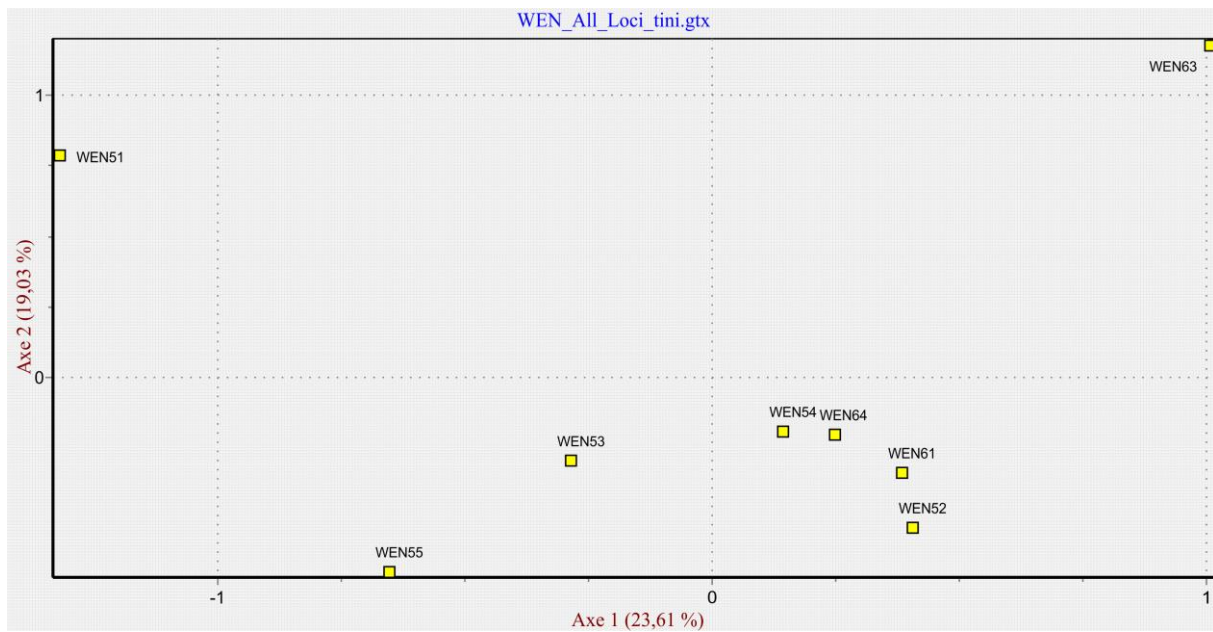
Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Sill	
<i>N</i>	38
<i>N_A</i>	12.8
<i>H_O</i>	0.702
<i>H_E</i>	0.675
<i>F_{IS}</i>	-0.012
<i>k-Test</i>	0.0449*
<i>g-Test</i>	0.9166
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	1
<i>N Families</i>	4
<i>N Siblings</i>	2/2/2/2



21) WEN - Wendbach (Inn)

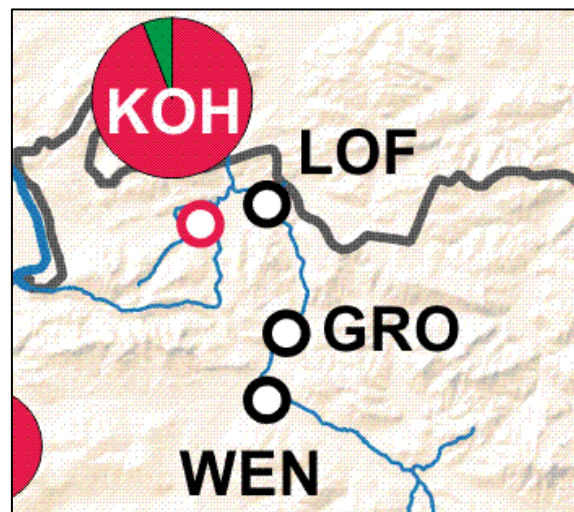
without Locus Tar101



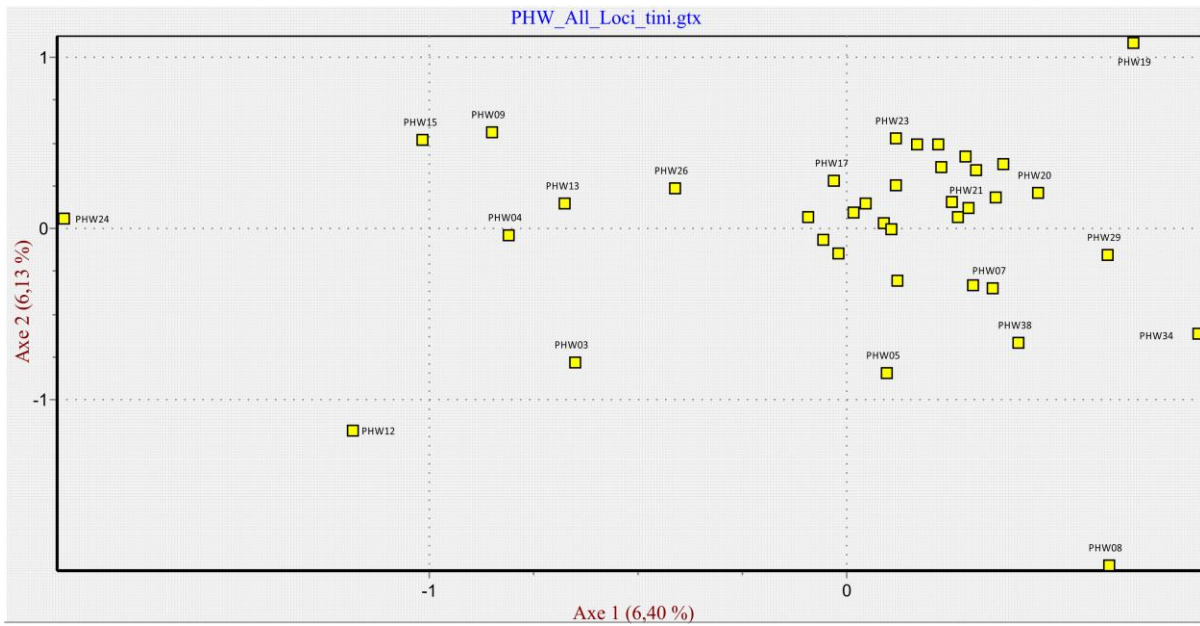
WEN hat kein CR Daten

Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

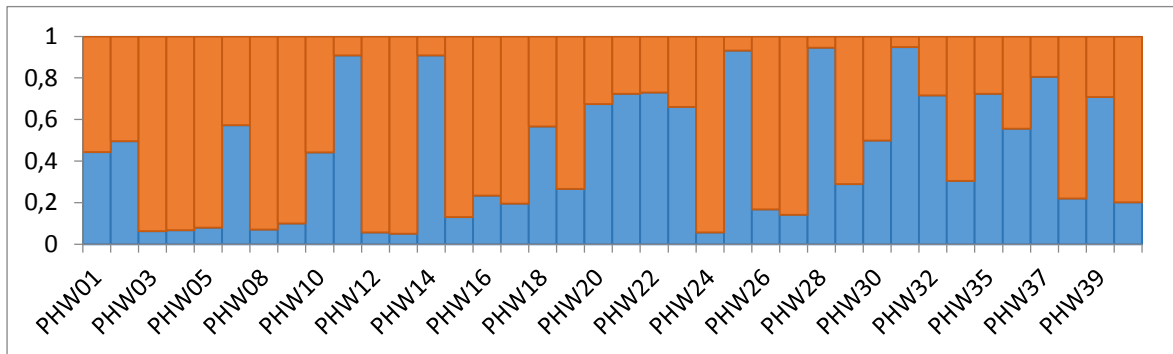
Wendbach	
N	8
N_A	4.7
H_o	0.745
H_E	0.741
F_{is}	-0.003
k-Test	0.0449*
g-Test	0.7043
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.24805
N Families	-
N Siblings	-



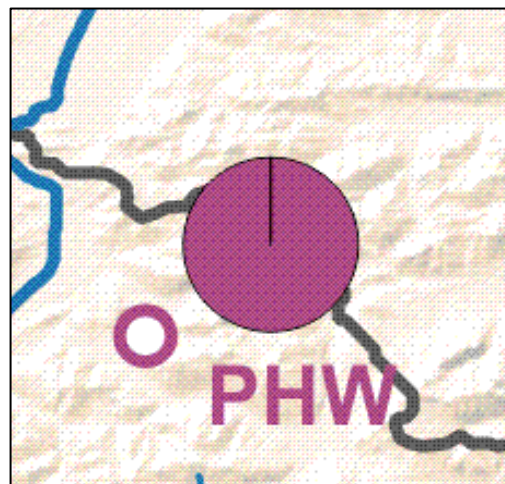
22) PHW - Heiterwanger+ Plansee (Leech)



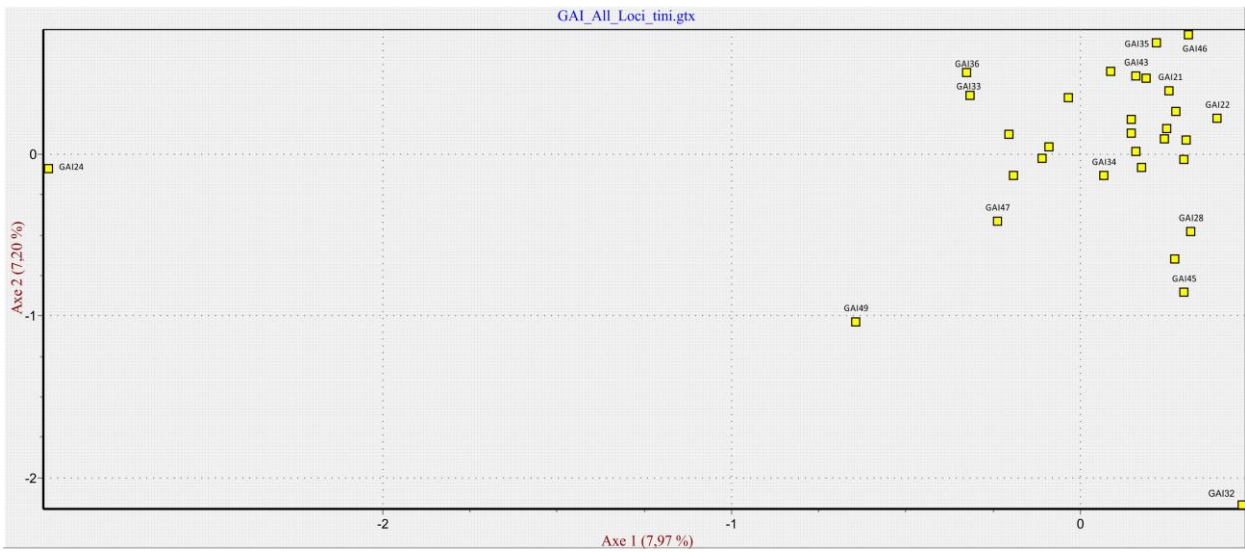
Highest DeltaK at K=2



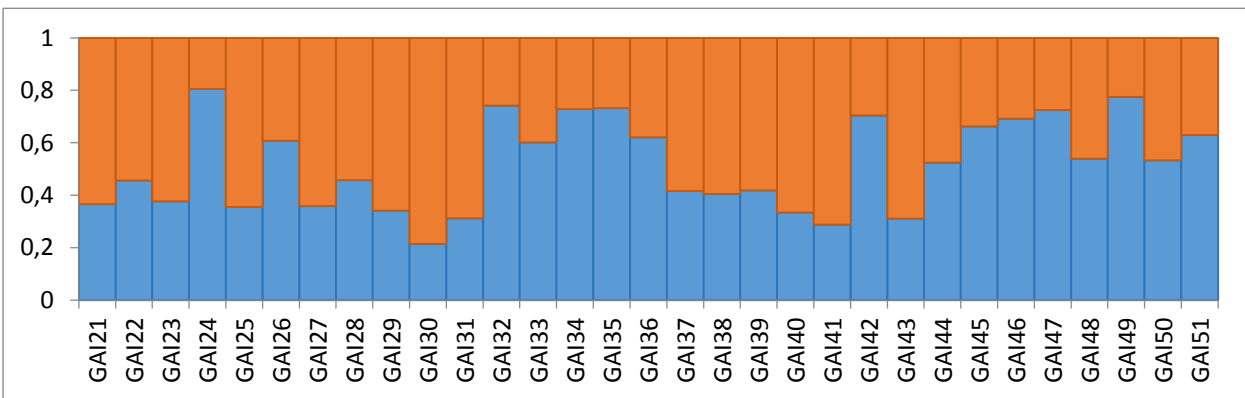
Plansee, Heiterwangersee	
N	38
N_A	10.7
H_o	0.753
H_E	0.768
F_{is}	0.02
k-Test	0.1484
g-Test	1.2125
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99023
N Families	2
N Siblings	3/2



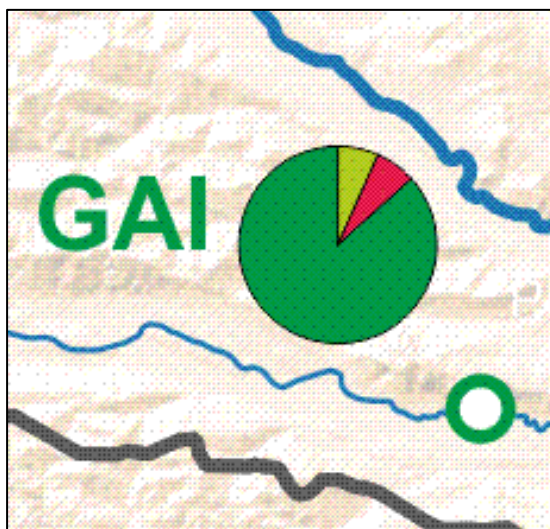
23) **GAI**- Gail (Feistritz)



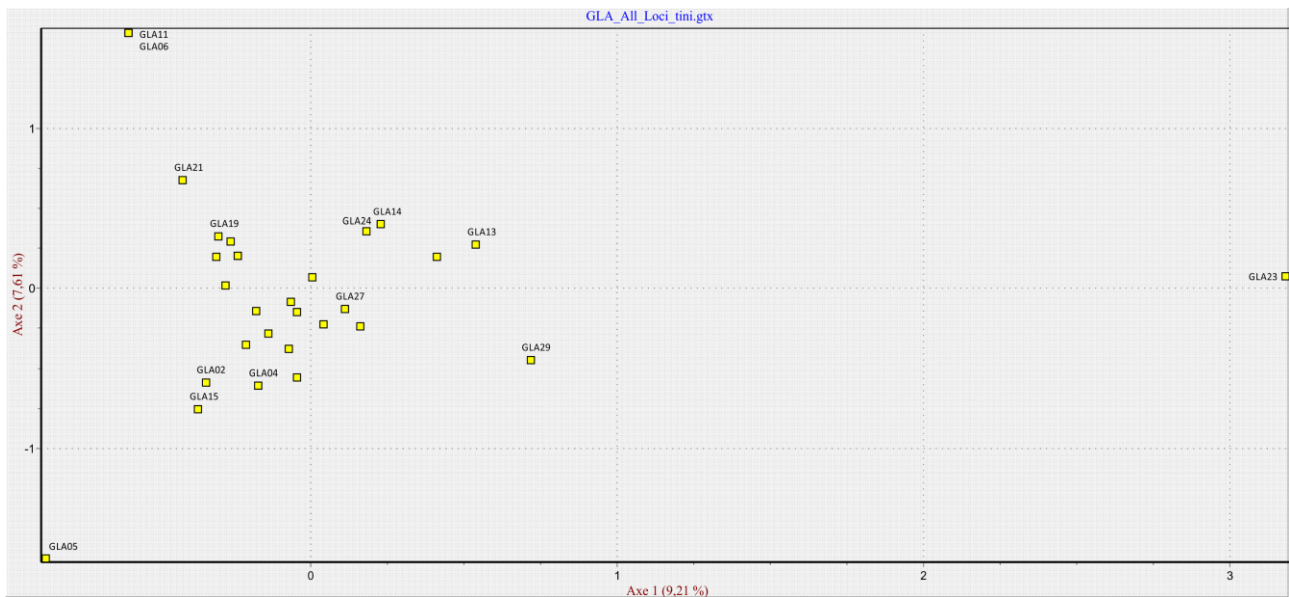
Highest DeltaK at K=2



Gail	
N	31
N_A	10
H_o	0.626
H_E	0.669
F_{is}	0.066
k-Test	0.0084**
g-Test	1.1542
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99658
N Families	1
N Siblings	2

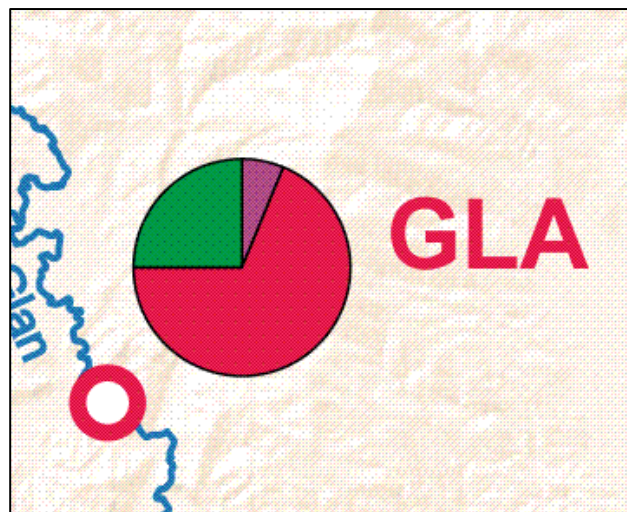


24) **GLA**- Glan (Drau)

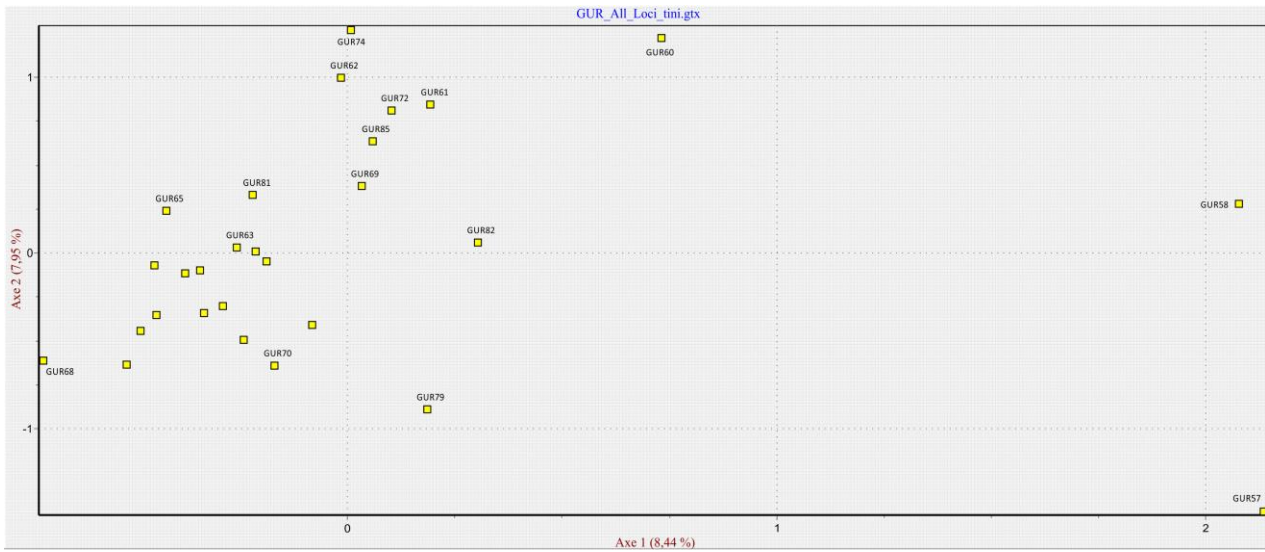


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

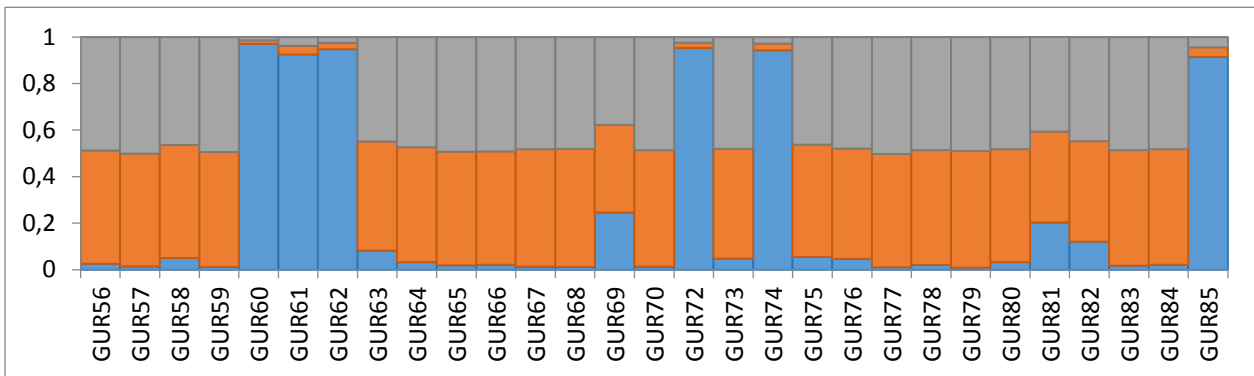
Glan	
<i>N</i>	28
<i>N_A</i>	10.8
<i>H_o</i>	0.759
<i>H_E</i>	0.792
<i>F_{IS}</i>	0.043
<i>k-Test</i>	0.1484
<i>g-Test</i>	1.2273
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.91992
<i>N Families</i>	3
<i>N Siblings</i>	2/2/2



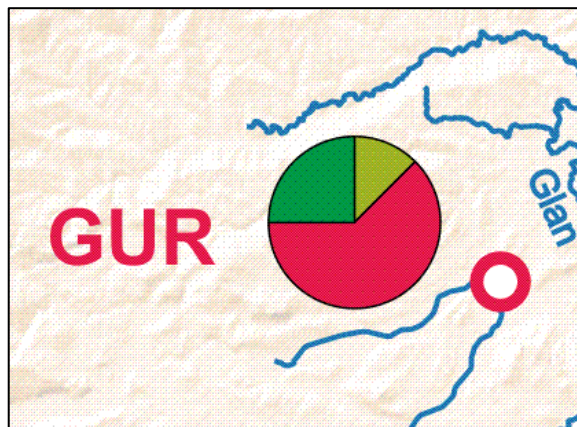
25) GUR-Gurk (Drau)



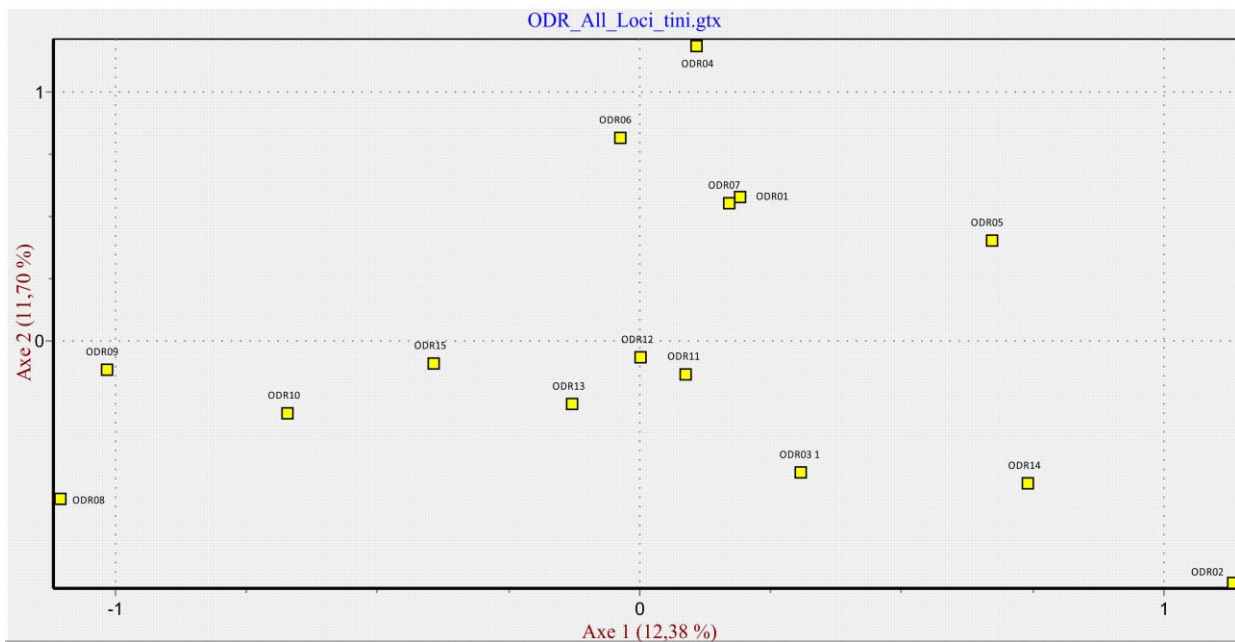
Highest DeltaK at K=3



Gurk	
N	29
N_A	11.5
H₀	0.783251
H_E	0.779691
F_{IS}	-0.005
k-Test	0.9339
g-Test	1.0875
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.94727
N Families	2
N Siblings	2/2

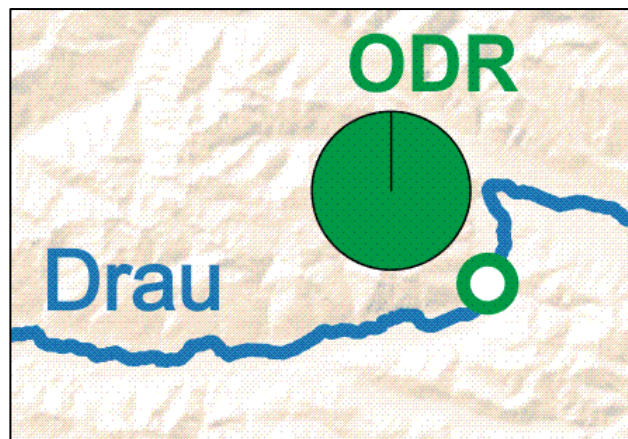


26) **ODR**- Obere Drau



Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Obere Drau	
N	15
N_A	6.8
H_o	0.628
H_E	0.689
F_{is}	0.09
k-Test	0.3406
g-Test	0.8445
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.71484
N Families	-
N Siblings	-



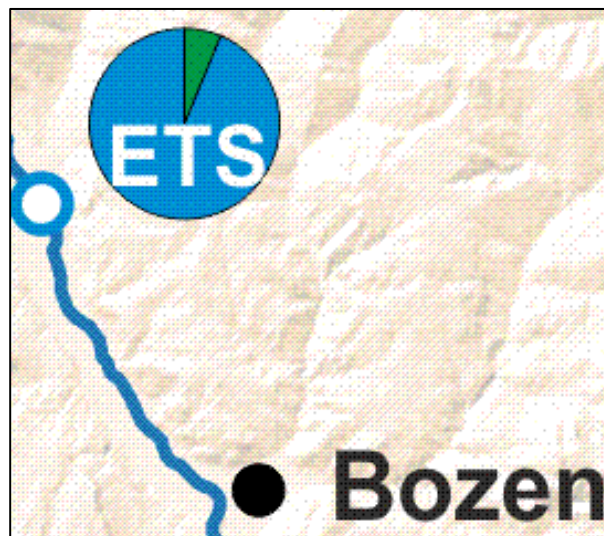
27) ETS - Etsch

ohne Locus Tar101

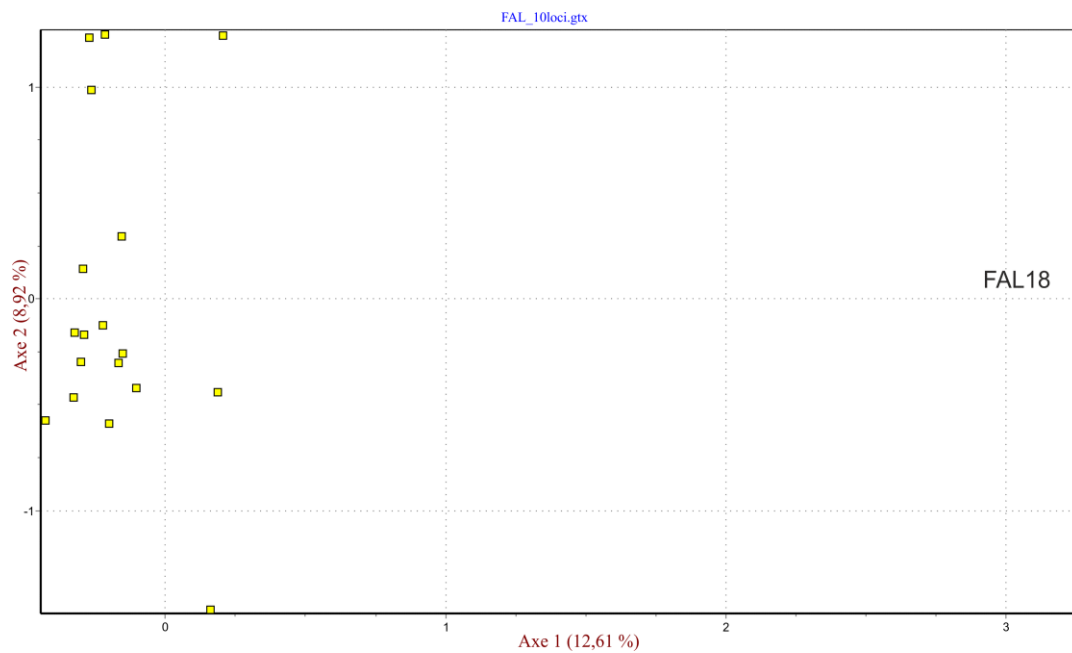


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Etsch	
<i>N</i>	20
<i>N_A</i>	7.4
<i>H_O</i>	0.492
<i>H_E</i>	0.623
<i>F_{IS}</i>	0.217*
<i>k-Test</i>	0.0157*
<i>g-Test</i>	0.8659
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.99707
<i>N Families</i>	1
<i>N Siblings</i>	2

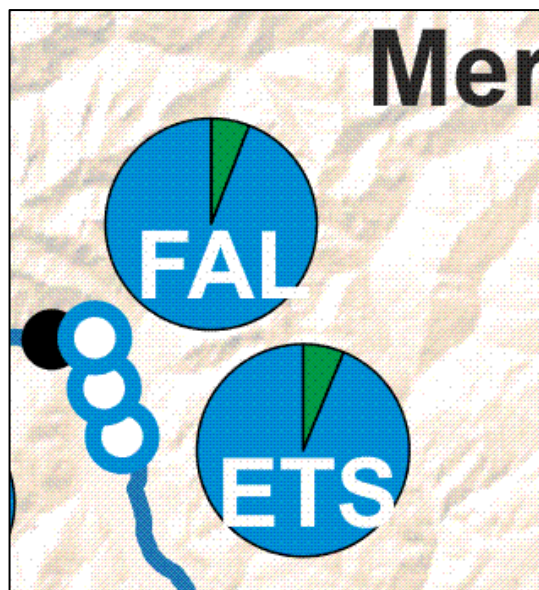


28) FAL- Falschauer (Etsch)

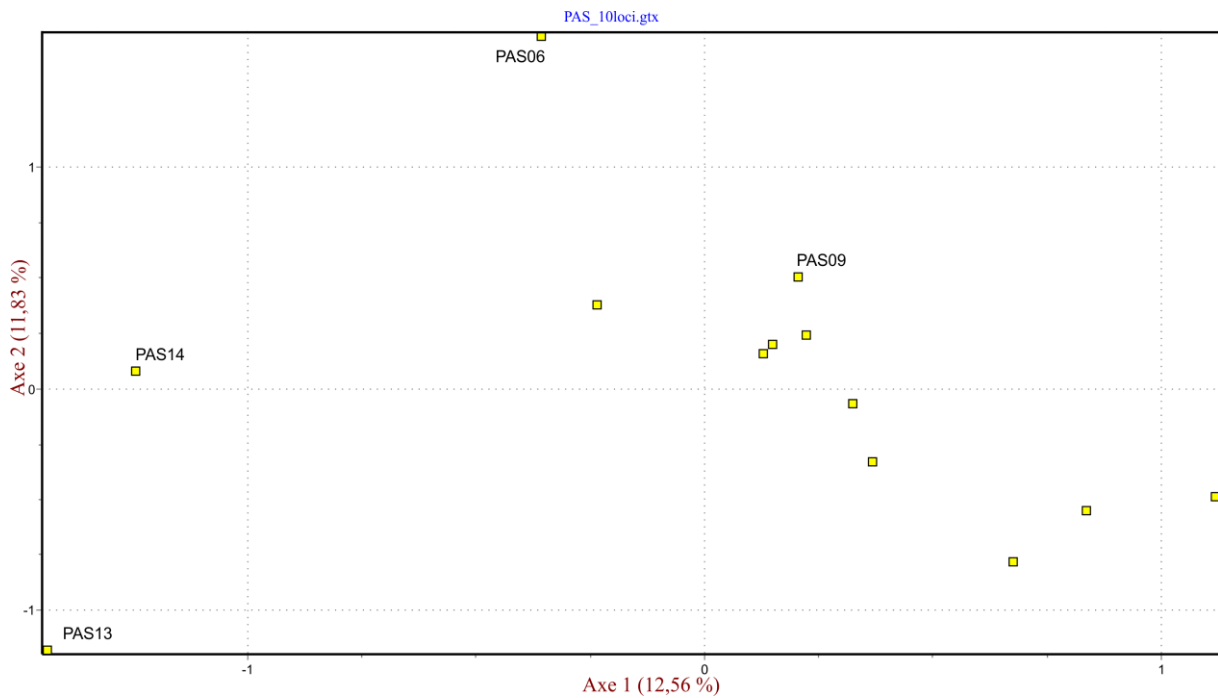


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Falschauer	
<i>N</i>	19
<i>N_A</i>	8.6
<i>H_O</i>	0.574
<i>H_E</i>	0.703
<i>F_{IS}</i>	0.191*
<i>k-Test</i>	0.1484
<i>g-Test</i>	1.7321
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.90332
<i>N Families</i>	-
<i>N Siblings</i>	-

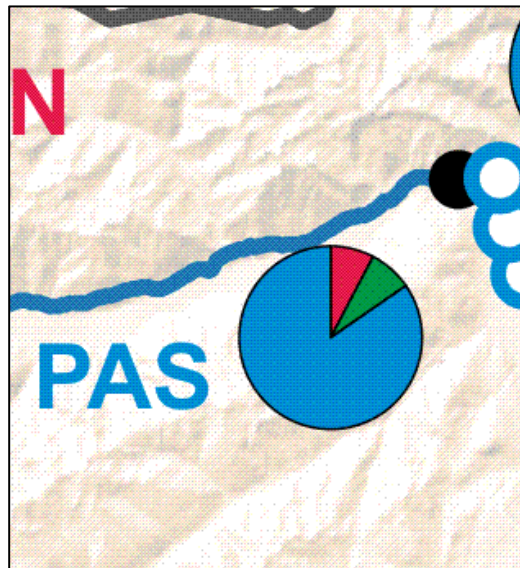


29) **PAS**- Passer (Etsch)

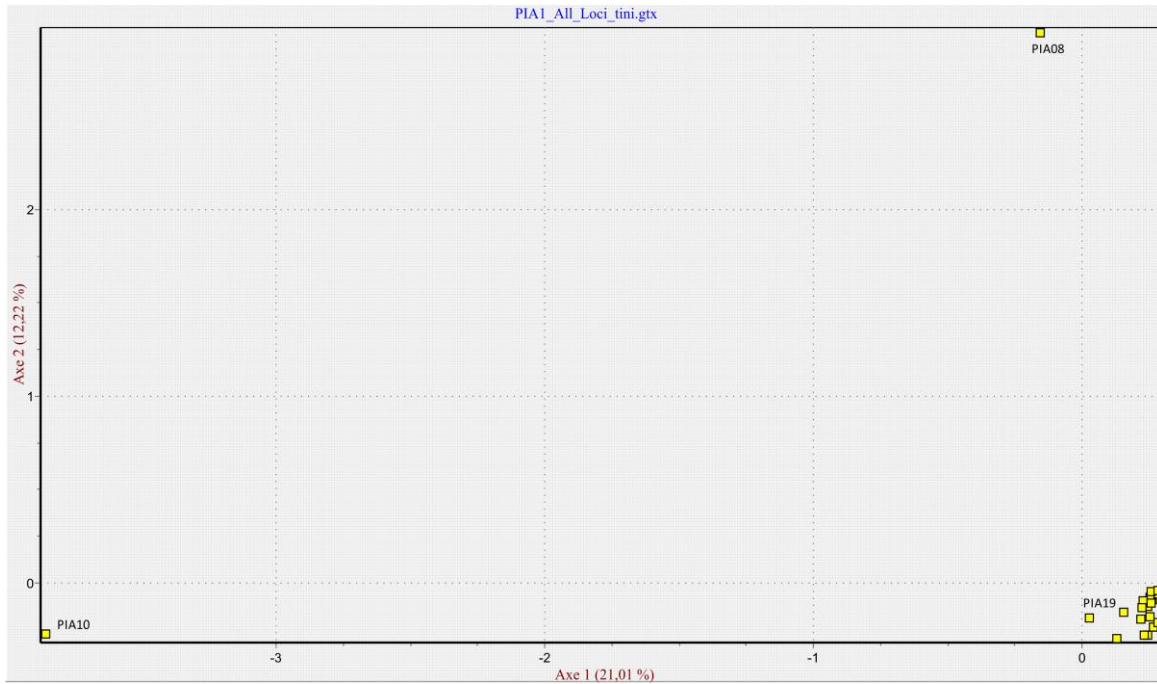


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

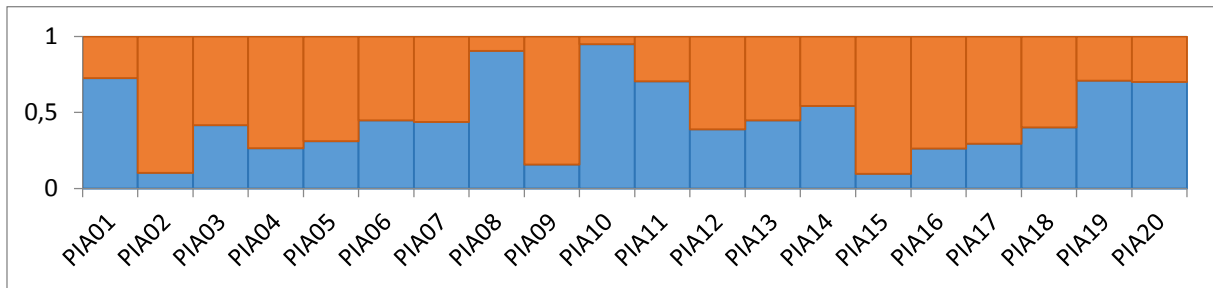
Passer	
N	13
N_A	7.5
H_O	0.625
H_E	0.679
F_{IS}	0.085
k-Test	0.1484
g-Test	0.9449
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.94727
N Families	-
N Siblings	-



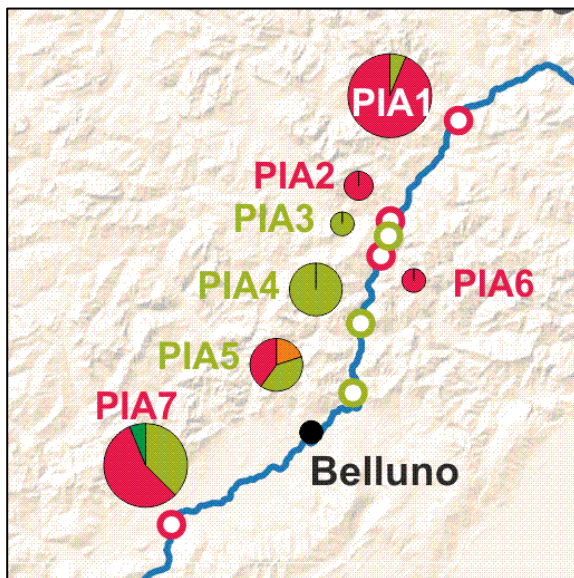
30) PIA1- Piave (PIA01-20)



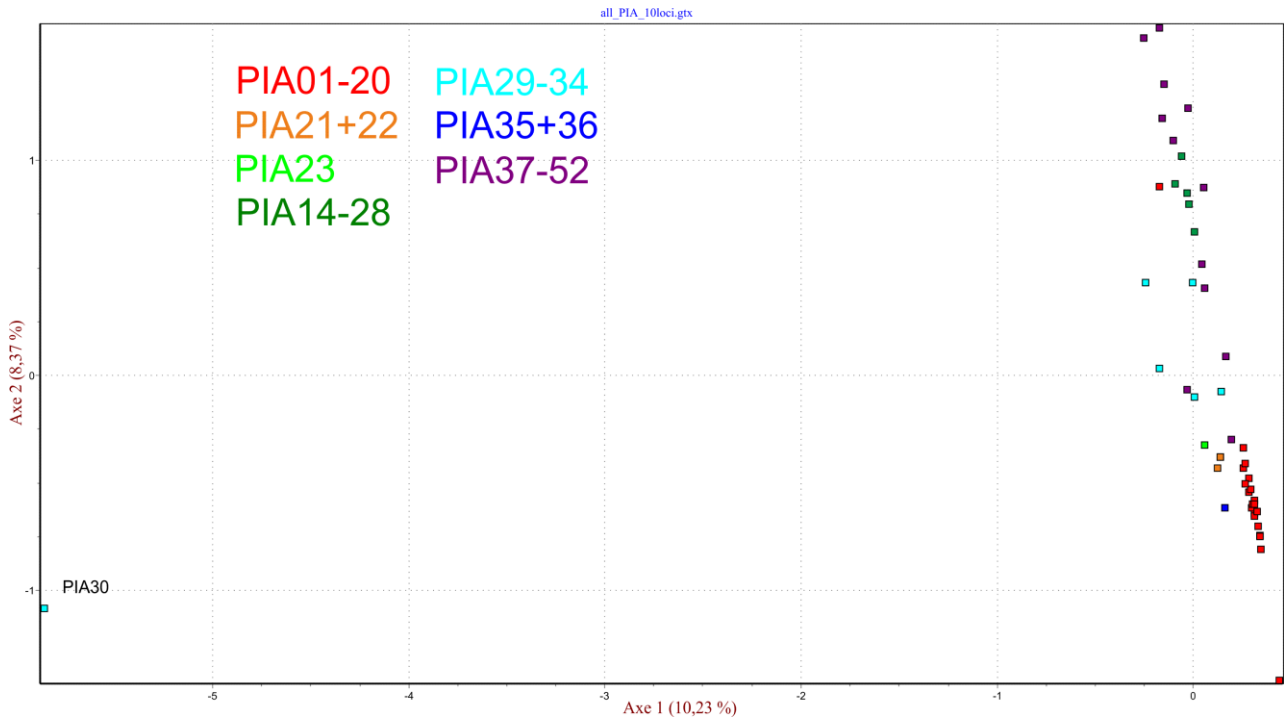
Highest DeltaK at K=2



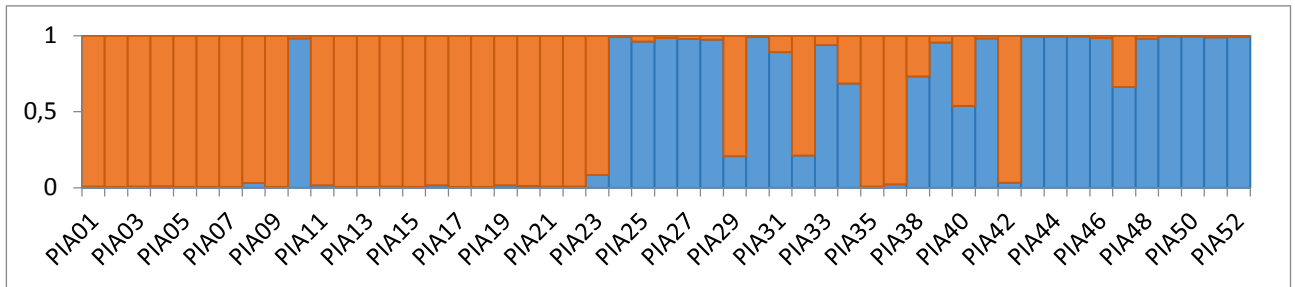
Piave1	
N	20
N_A	8.4
H_O	0.692
H_E	0.746
F_{IS}	0.074
k-Test	0.3406
g-Test	0.8081
p-Wert (Wilcoxon Test)	1
N Families	-
N Siblings	-



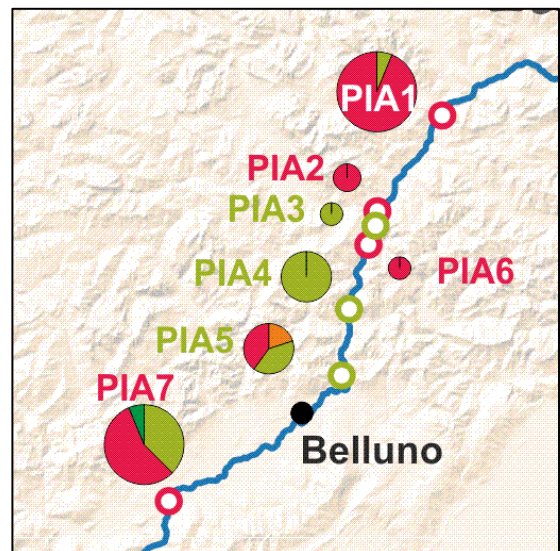
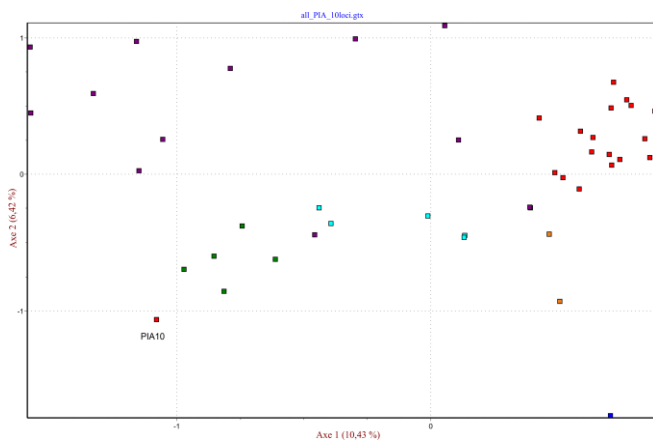
31-35) PIA1-7 (mit PIA2-6)



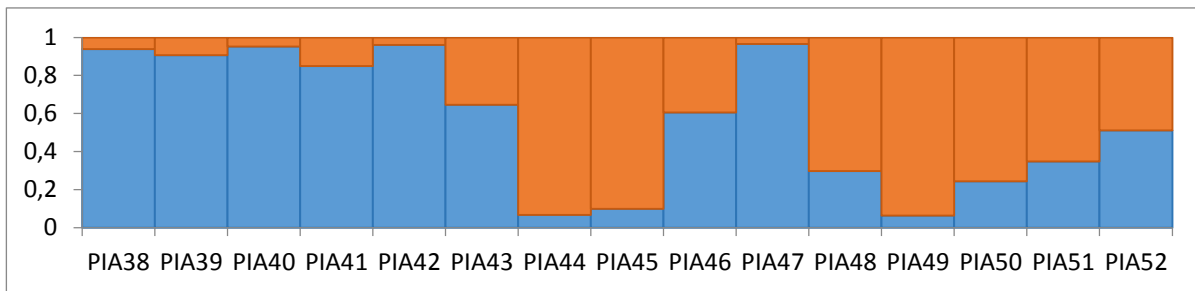
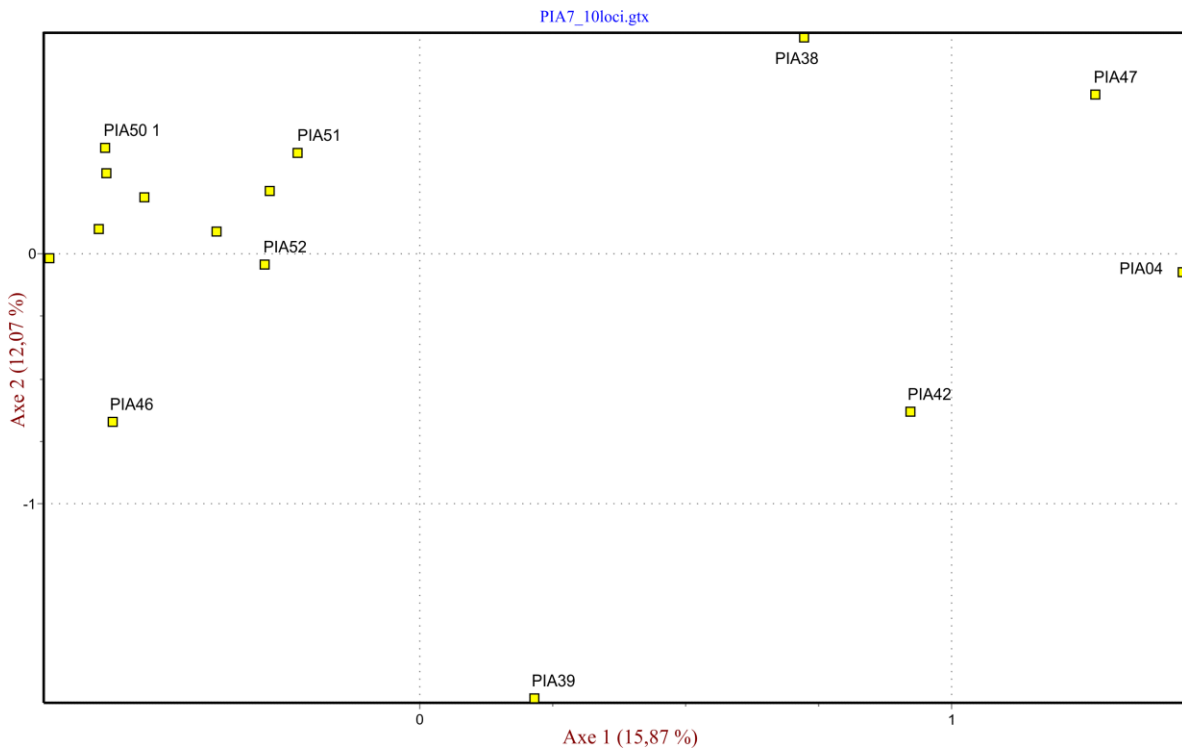
Highest DeltaK at K=2



FCA ohne PIA08,11 und 30

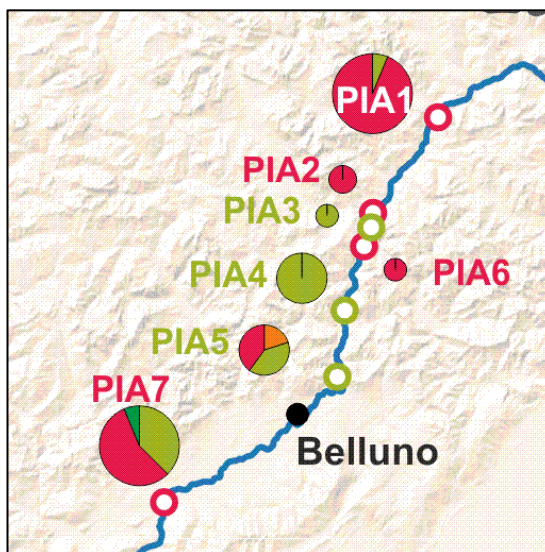


36) PIA7- Piave (PIA37-52)

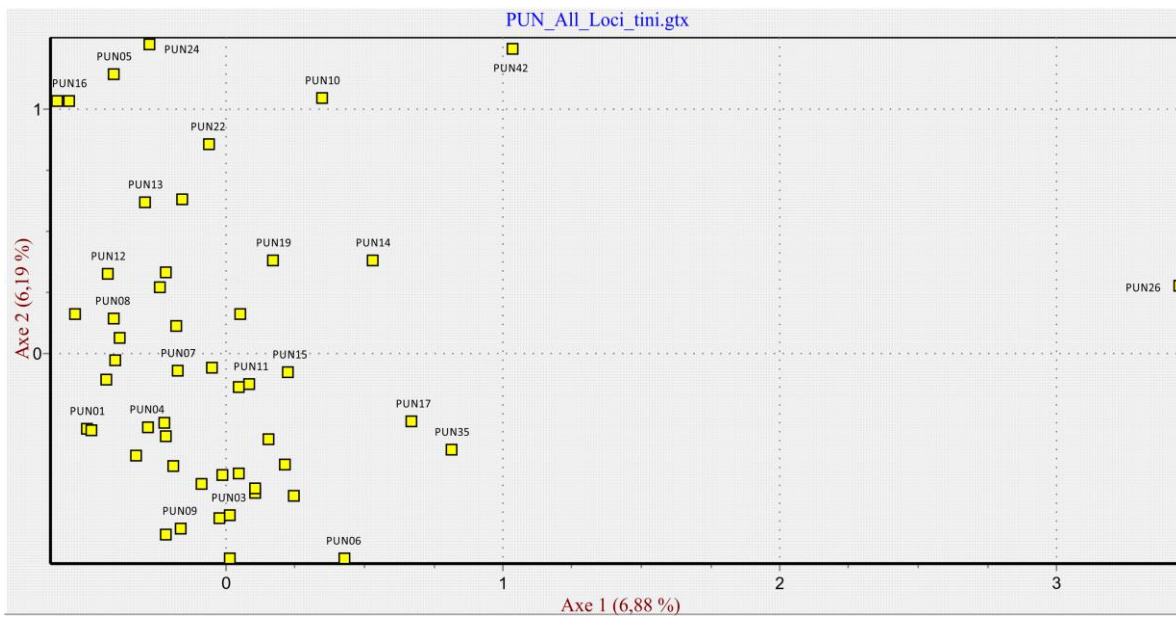


Highest DeltaK at K=2

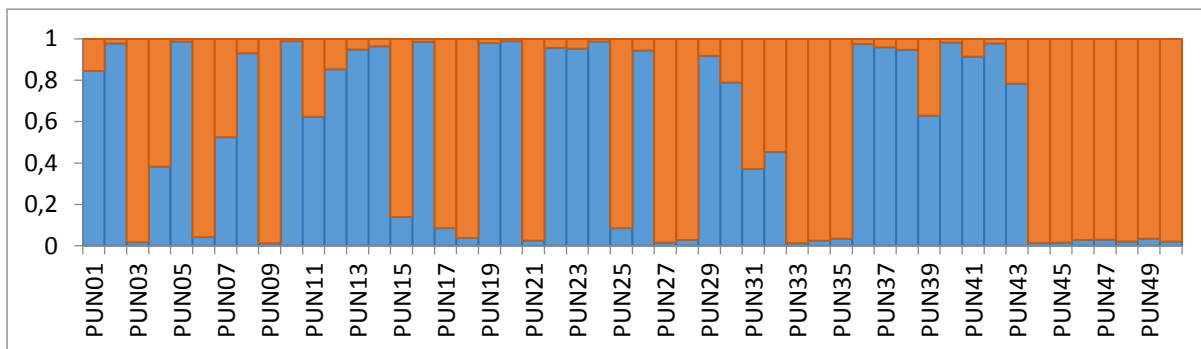
Piave7	
N	15
N_A	7.3
H_O	0.688
H_E	0.749
F_{IS}	0.084
k-Test	0.8024
g-Test	0.9342
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.95801
N Families	-
N Siblings	-



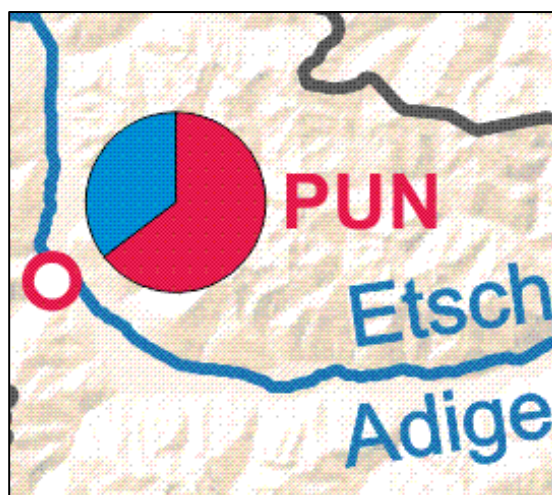
37) PUN - Puni (Etsch)



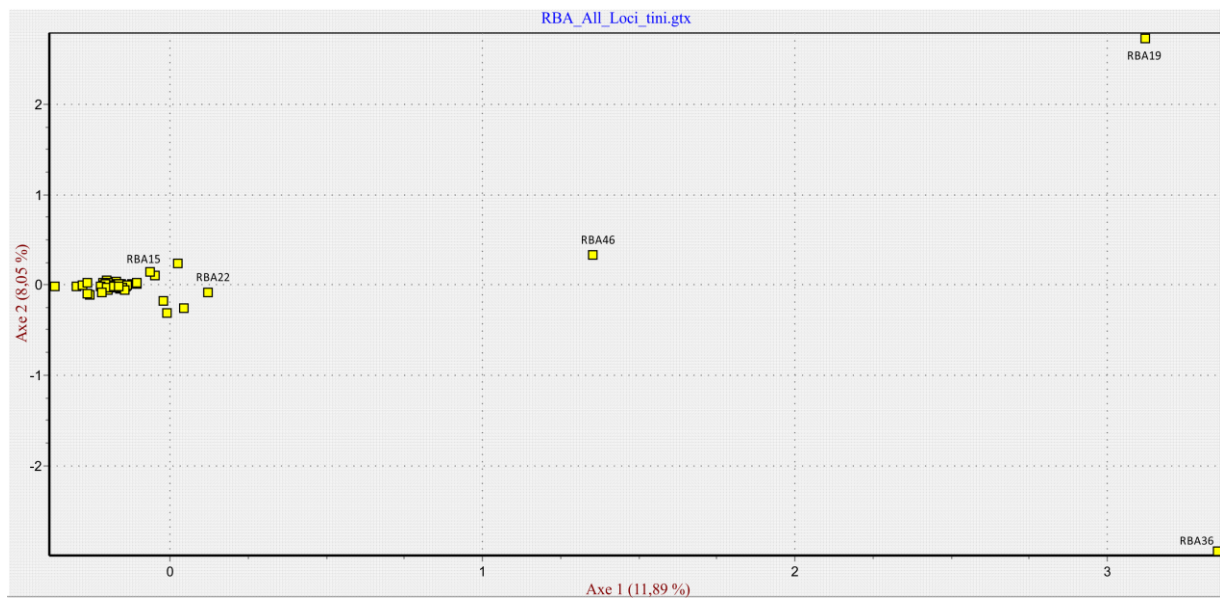
Highest DeltaK at K=2



Puni	
N	50
N_A	10.1
H₀	0.646
H_E	0.738
F_{IS}	0.127*
k-Test	0.5856
g-Test	1.1445
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99768
N Families	4
N Siblings	2/2/2/2

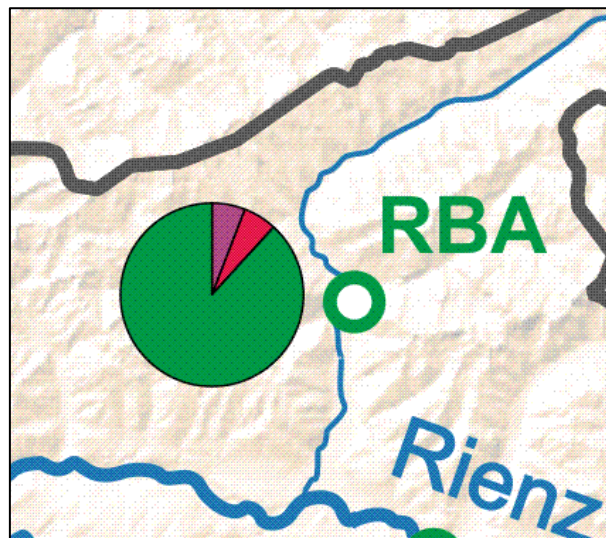


38) RBA - Reinbach (Etsch)

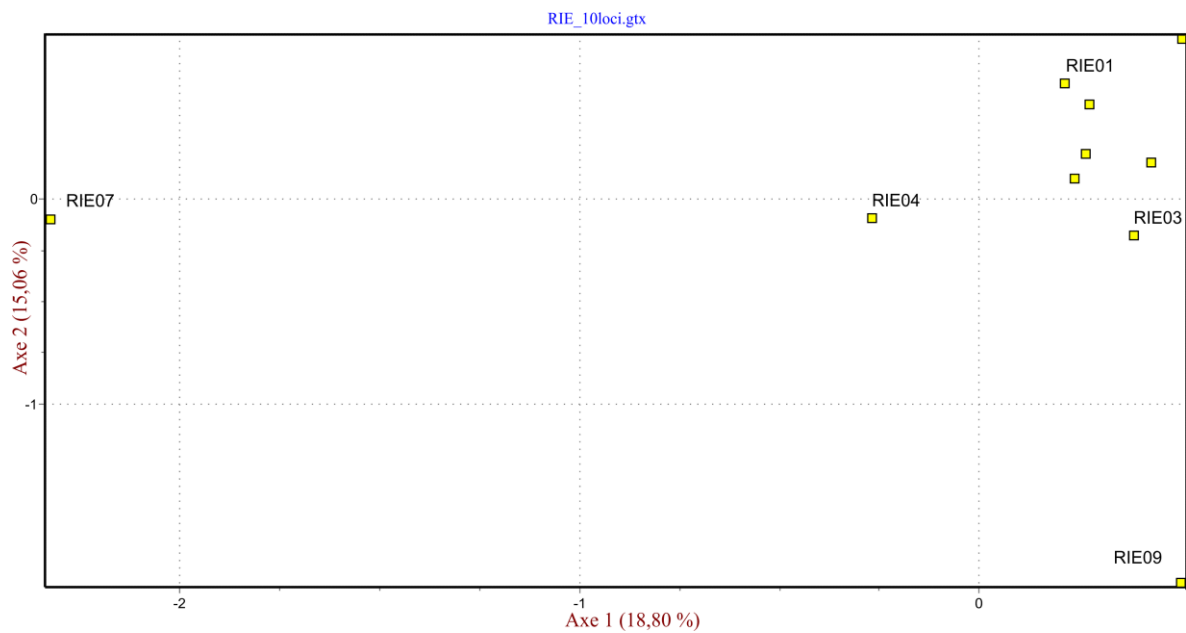


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Reinbach	
<i>N</i>	50
<i>N_A</i>	8.1
<i>H_O</i>	0.521
<i>H_E</i>	0.518
<i>F_{IS}</i>	-0.002
<i>k-Test</i>	0.0084**
<i>g-Test</i>	0.6016
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.99951
<i>N Families</i>	4
<i>N Siblings</i>	2/2/2/2

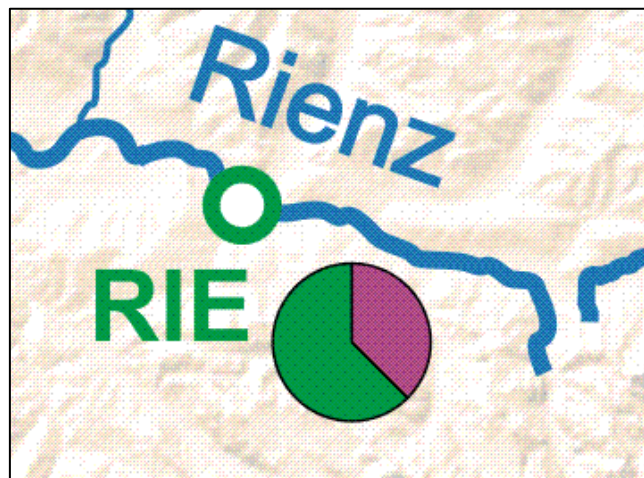


39) RIE- Rienz (Etsch)

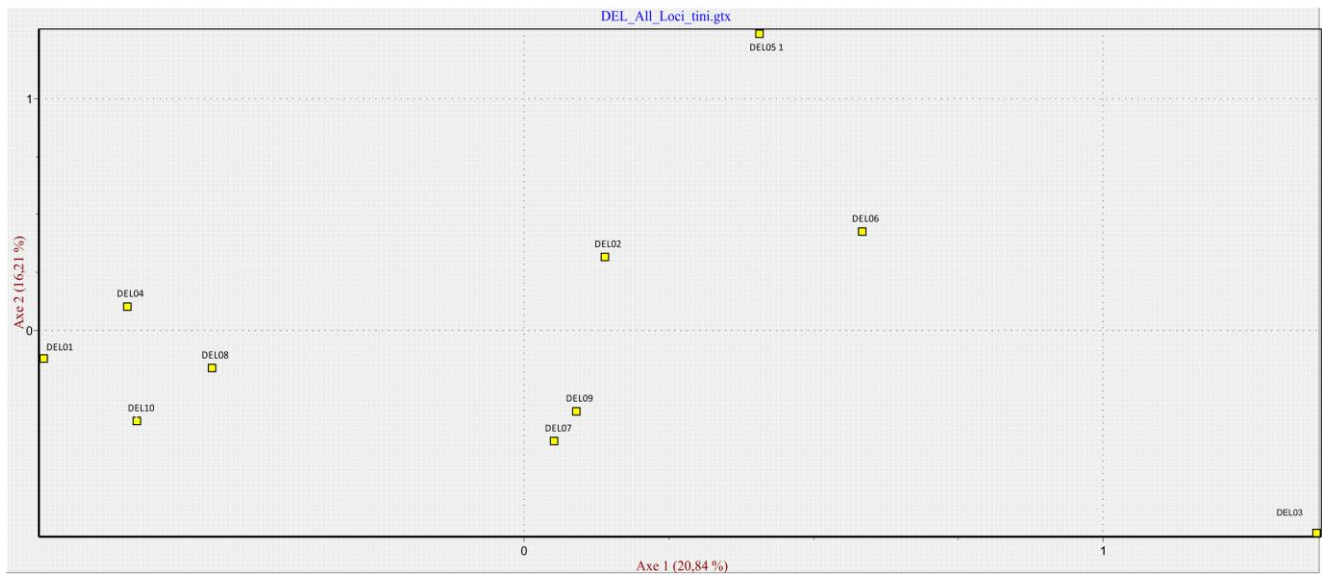


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Rienz	
<i>N</i>	10
<i>N_A</i>	7.5
<i>H_O</i>	0.759
<i>H_E</i>	0.795
<i>F_{IS}</i>	0.050
<i>k-Test</i>	0.9339
<i>g-Test</i>	0.7456
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.99658
<i>N Families</i>	-
<i>N Siblings</i>	-



40) DEL- Dellacher Laue (Drau) Hatchery



CR daten nicht inkludiert

Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

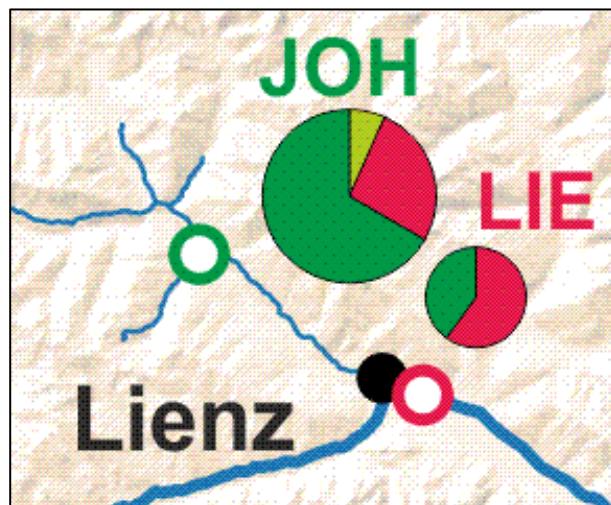
Dellacher Laue - Fischzucht	
<i>N</i>	10
<i>N_A</i>	4.7
<i>H_O</i>	0.638
<i>H_E</i>	0.656
<i>F_{IS}</i>	0.039
<i>k-Test</i>	0.3406
<i>g-Test</i>	1.6216
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.45508
<i>N Families</i>	-
<i>N Siblings</i>	-

41) JOH - Michelbach (St. Johann i. Walde , Drau)

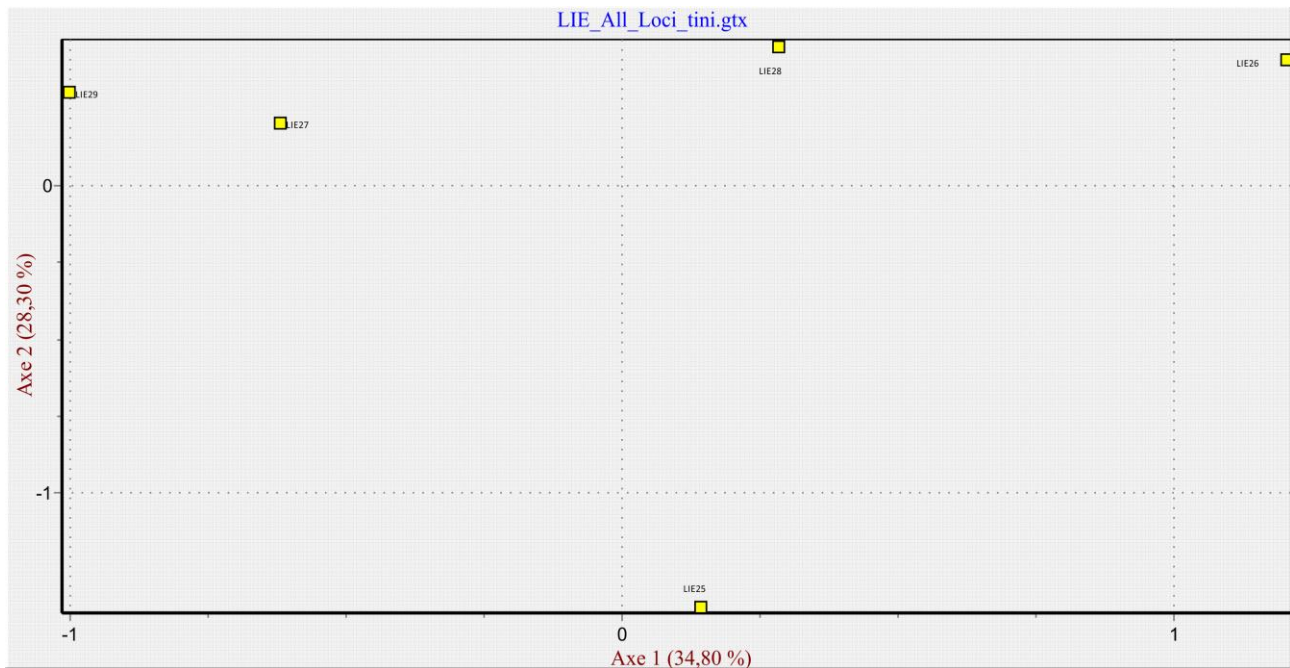


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Michelbach	
<i>N</i>	53
<i>N_A</i>	10.3
<i>H_O</i>	0.603
<i>H_E</i>	0.606
<i>F_{IS}</i>	0.006
<i>k-Test</i>	0.0084**
<i>g-Test</i>	1.0096
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.99756
<i>N Families</i>	6
<i>N Siblings</i>	2/2/2/2/2/2

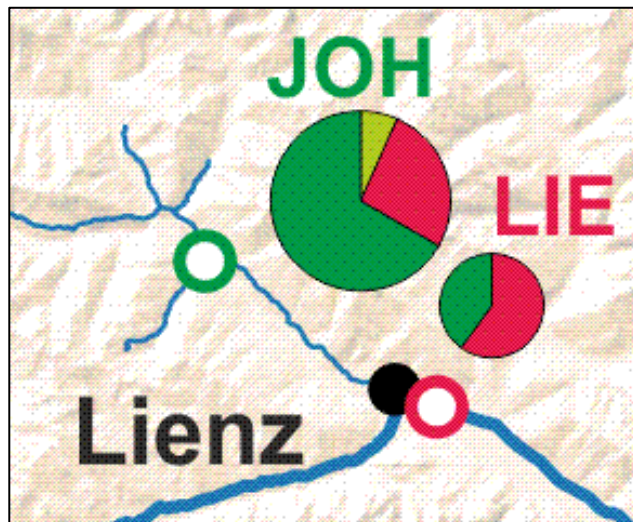


42) LIE - Lienz (Drau)

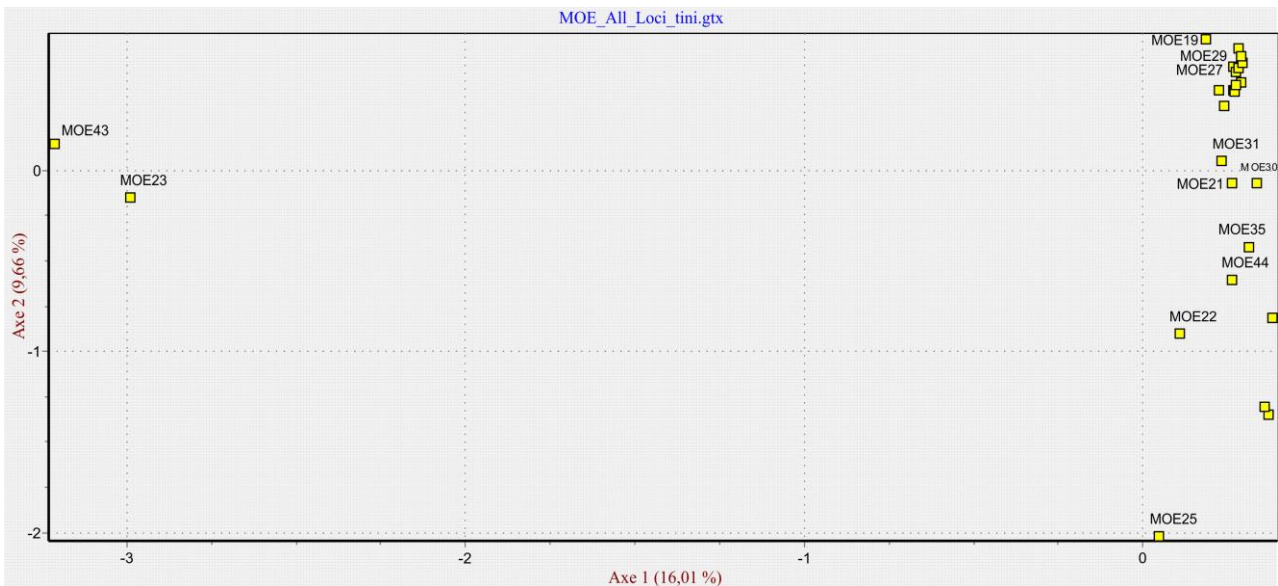


Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Lienz	
<i>N</i>	5
<i>N_A</i>	4.7
<i>H_O</i>	0.82
<i>H_E</i>	0.744
<i>F_{IS}</i>	-0.116
<i>k-Test</i>	0.3406
<i>g-Test</i>	1.5832
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.65234
<i>N Families</i>	-
<i>N Siblings</i>	-

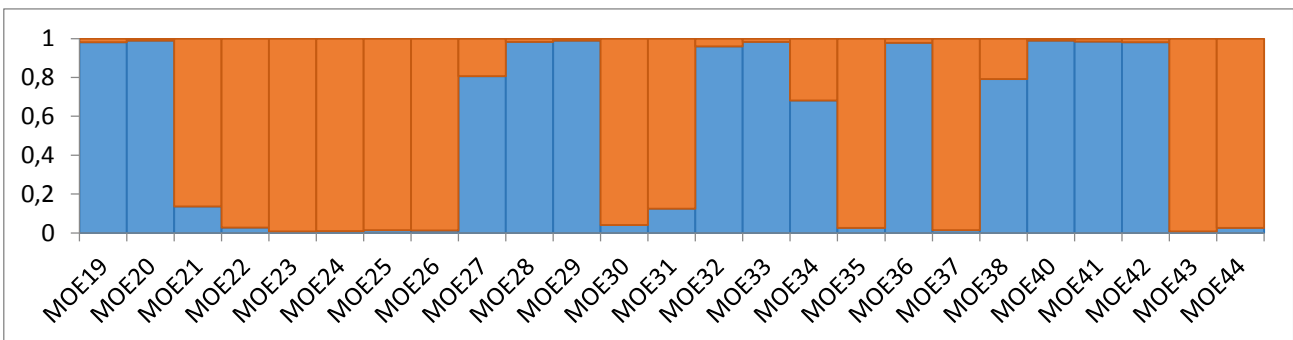


43) MOE - Möll (Drau)



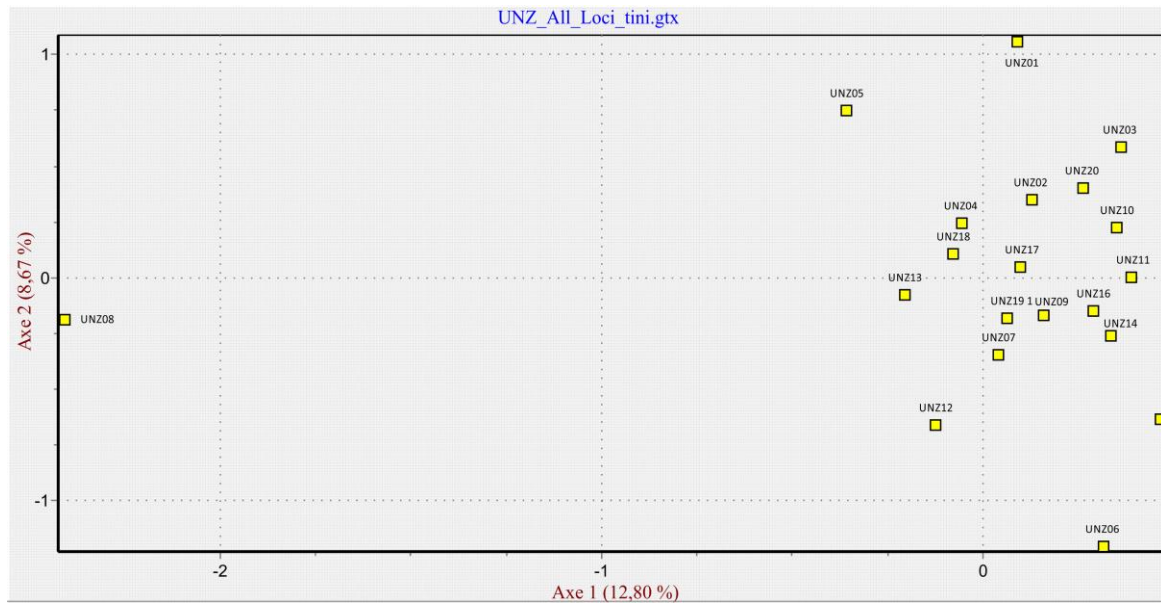
CR Daten nicht inkludiert

Highest DeltaK at K=2 (10 loci)



Möll	
N	25
N_A	10.3
H_O	0.643
H_E	0.715
F_{IS}	0.103**
k-Test	0.0449*
g-Test	0.742
p-Wert (Wilcoxon Test)	0.99658
N Families	5
N Siblings	3/4/2/2/3

44) UNZ - Unzmarkt (Mur)



UNZ hat kein CR Daten

Keine Aufteilung in STRUCTURE gefunden

Unzmarkt	
<i>N</i>	20
<i>N_A</i>	6.7
<i>H_o</i>	0.746
<i>H_E</i>	0.706
<i>F_{is}</i>	-0.058
<i>k-Test</i>	0.0084**
<i>g-Test</i>	0.8091
<i>p-Wert (Wilcoxon Test)</i>	0.96289
<i>N Families</i>	-
<i>N Siblings</i>	-

